

**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**Facultad de Ciencias de la Salud**  
**Escuela de Medicina Veterinaria**

**Clínica y reproducción de cerdos en la Escuela Superior de  
Medicina Veterinaria de Hannover, Alemania.**

**Modalidad: Pasantía**

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado  
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

**Autor: María Fernanda Sánchez Quirós**

**Campus Presbítero Benjamín Núñez**

**2012**

**TRIBUNAL EXAMINADOR**

**Clínica y reproducción de cerdos en la Escuela Superior de Medicina Veterinaria de  
Hannover, Alemania**

---

Dr. Rafael Ángel Vindas Bolaños  
Vicedecano de la Facultad de Ciencias de la Salud

---

Dra. Laura Castro Ramírez  
Directora de la Escuela de Medicina Veterinaria

---

Dr. Juan Carlos Jiménez Marichal  
Tutor

---

Dra. Gaby Dolz Wiedner  
Lectora

---

Dr. Juan José Romero  
Lector

Fecha: \_\_\_\_\_

**DEDICATORIA**

A mis padres por su apoyo incondicional durante todos estos años de carrera, por el soporte emocional que me han dado, sobre todo en tiempos difíciles, y porque gracias a ellos he tenido la oportunidad de estudiar tan fascinante carrera.

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme las fuerzas para seguir adelante y porque gracias a Él estoy donde estoy.

A mi tutor, el Dr. Juan Carlos Jiménez, por su apoyo incondicional, su guía y la valiosa transmisión de sus conocimientos durante el tiempo compartido y en la realización de este trabajo.

A la Dra. Gaby Dolz por su importante ayuda a la hora de concretar esta pasantía, velando porque todos los trámites se realizaran de manera adecuada y permitiendo así que la práctica se pudiera disfrutar al máximo.

Un agradecimiento especial a todos los tutores y doctores de Alemania con los cuales trabajé durante el desarrollo de esta pasantía, principalmente a Alexandra Bölling por la ayuda brindada tanto durante la práctica como en la realización de este trabajo.

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por su valiosa colaboración para la realización de esta pasantía.

A todos mis compañeros de carrera, en especial a mi grupo de internado, por todos los momentos compartidos y por el apoyo brindado durante todos estos años de carrera.

## RESUMEN

La presente pasantía se realizó en la Escuela Superior de Medicina Veterinaria de Hannover, Alemania y tuvo una duración de 3 meses, del 01 de febrero al 30 de abril del 2011. La práctica se llevó a cabo en 3 lugares diferentes: 1) Instituto de Medicina Reproductiva, 2) Clínica de Cerdos, 3) Estación Epidemiológica Bakum. Además, se realizaron visitas a fincas porcinas en la región de Melle.

Se realizaron colectas de semen en verracos, evaluaciones andrológicas, análisis de muestras de semen mediante técnicas convencionales y se recibió capacitación en distintas técnicas de espermatología especial, como lo son la citometría de flujo, microscopía de fluorescencia, ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto y aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas. Aunado a esto, se efectuaron ultrasonidos en cerdas, para evaluar la función ovárica; cirugías para la infiltración de plasma seminal en los cuernos uterinos y extracción de folículos ováricos como parte de los proyectos de tesis de los estudiantes de doctorado.

Se visitaron un total de 16 fincas porcinas en las regiones de Hannover, Melle y Bakum de Alemania. Tres visitas se llevaron a cabo con el propósito de realizar ultrasonido en cerdas para diagnóstico de preñez y 7 para vacunación contra agentes infecciosos como Parvovirus, *Erysipelothrix rhusopathiae*, Influenza Porcina, virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS), Circovirus Porcino (PCV2), *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis*. Una de las visitas se realizó con el fin de castrar 20 lechones con

hernias inguinales y criptórquidos. Por último, 7 visitas se realizaron con el propósito de evaluar casos clínicos específicos en las fincas.

En cada una de las visitas se realizó una inspección de las instalaciones de la finca así como del manejo y condición de los animales. Posteriormente, si se consideraba necesario, se procedía a la toma de muestras para enviar a los laboratorios de diagnóstico.

La casuística observada consistió en problemas respiratorios (en mayor cantidad), digestivos, locomotores y reproductivos. Se exponen 2 casos clínicos, uno correspondiente a *Mycoplasma hyopneumoniae* y otro a Salmonelosis, en los cuales se detallan la anamnesis, el abordaje y las recomendaciones dadas a los propietarios.

## ABSTRACT

This externship was performed at the University of Veterinary Medicine Hannover, Germany, from February 1<sup>st</sup> to April 30<sup>th</sup> 2011. The practice took place in 3 different locations: 1) Institute for Reproductive Medicine, 2) Clinic for Swine, 3) Field Station for Epidemiology Bakum. Also, farm's visits in Melle were made.

Semen collections, breeding soundness examination and semen sample analysis by conventional techniques were performed; training on advanced spermatology techniques such as flowcytometry, fluorescence microscopy, sperm cells binding to the oviduct's epithelium assays and isolation of oocytes were made. Moreover, ultrasonographies were performed on sows to evaluate the ovaries functionality. Finally, as part of post graduates student's thesis projects, surgeries were conducted in order to infiltrate seminal plasma in the uterine horn and extract ovarian follicles.

A total of 16 swine farms were visited in Hannover, Melle and Bakum. Three visits were performed for pregnancy diagnosis by ultrasonography, whereas seven visits were for sows' vaccination against infectious agents such as parvovirus, *Erysipelothrix rhusopathiae*, swine flu, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, Porcine Circovirus, *Haemophilus parasuis* and *Streptococcus suis*. One visit was performed to castrate 20 piglets with inguinal hernias and cryptorchids. Seven visits were performed to evaluate specific clinical cases at the farms.

In every visit, the following protocol was conducted: evaluation of farm's facilities, of management practices and of animal conditions. Later on, if necessary, samples were taken in order to send to the diagnostic laboratories.

The clinical signs observed corresponded to respiratory (mainly), digestive, locomotor and reproductive diseases. Two clinical cases are exposed, one regarding to a *M. hyopneumoniae* infection and the other one to Salmonellosis. For both cases, the anamnesis, the case approach and recommendations given to the owner are detailed.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>TRIBUNAL EXAMINADOR.....</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>INDICE DE CUADROS .....</b>	<b>xi</b>
<b>INDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Antecedentes.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Justificación.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Objetivos.....</b>	<b>4</b>
<i>1.3.1. Objetivo general.....</i>	<i>4</i>
<i>1.3.2. Objetivos específicos.....</i>	<i>4</i>
<b>2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Instituto de Medicina Reproductiva .....</b>	<b>6</b>
<i>2.1.1. Microscopía de fluorescencia .....</i>	<i>11</i>
<i>2.1.2. Citometría de flujo .....</i>	<i>12</i>
<i>2.1.3. Ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto. ....</i>	<i>12</i>
<i>2.1.4. Aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas .....</i>	<i>13</i>
<b>2.2. Clínica de Cerdos.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3. Estación Epidemiológica de Bakum .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4. Melle .....</b>	<b>15</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1. Reproducción .....</b>	<b>17</b>
<i>3.1.1. Técnicas de espermatoología especial utilizadas en el Instituto de Medicina Reproductiva.....</i>	<i>20</i>
3.1.1.1. Microscopía de fluorescencia.....	21
3.1.1.2. Citometría de flujo .....	22
3.1.1.3. Ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto .....	24

3.1.1.4. Aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas. ....	25
<b>3.2. Clínica .....</b>	<b>27</b>
3.2.1. <i>Caso 1: Salmonelosis en finca porcina</i> .....	31
3.2.1.1. Datos, estructura y manejo de la finca .....	31
3.2.1.2. Historia de la granja .....	34
3.2.1.3. Inspección de la finca.....	37
3.2.1.4. Recomendaciones después de la inspección .....	38
3.2.1.5. Resolución.....	38
3.2.1.6. Discusión.....	40
3.2.2. <i>Caso 2: Mycoplasma hyopneumoniae en finca porcina</i> .....	45
3.2.2.1. Datos, estructura y manejo de la finca .....	45
3.2.2.2. Historia de la finca .....	47
3.2.2.3. Inspección de la finca.....	48
3.2.2.4. Resultados de laboratorio.....	49
3.2.2.5. Recomendaciones.....	51
3.2.2.6. Discusión.....	51
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>61</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>68</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Protocolo para evaluación de la morfología espermática.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Exigencias mínimas referentes a la calidad del esperma del verraco de acuerdo con las normas de garantía de la Asociación Central de Producción Porcina Alemana.....	10
<b>Cuadro 3.</b> Actividades realizadas en el área de reproducción durante la pasantía.....	17
<b>Cuadro 4.</b> Actividades realizadas durante las visitas a las fincas.....	27
<b>Cuadro 5.</b> Diagnóstico de anticuerpos contra Salmonella (Antígeno-O 1, 4, 6, 5, 7 y 12) en suero mediante ELISA (Salmotype® Pig Screen).....	35
<b>Cuadro 6.</b> Diagnóstico de <i>S. typhimurium</i> mediante cultivo bacteriológico (A) y PCR en tiempo real (B) en heces.....	36
<b>Cuadro 7.</b> Detección de anticuerpos contra Salmonella (Antígeno-O 1, 4, 6, 5, 7 y 12) en suero mediante ELISA (Salmotype® Pig Screen).....	39
<b>Cuadro 8.</b> Programa de vacunación y tratamientos aplicados durante el periodo de aclimatación realizado a las cerdas de remplazo al introducirse en la finca.....	46
<b>Cuadro 9.</b> Parámetros reproductivos de la finca en determinados periodos de tiempo.....	48

## INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Espermatozoides observados al microscopio de fases una vez teñidos con la tinción Hoechst 33342.....22
- Figura 2.** Representación de las distintas poblaciones de células observadas en la citometría de flujo de acuerdo al estado de la membrana plasmática y el acrosoma en las células espermáticas.....24

## LISTA DE ABREVIATURAS

BTS: Beltsville Thawing Solution.

DAPI: 4', 6diamidino-2-fenilindole, dilactato.

ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*/Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.

FCS: Suero fisiológico de ternero.

FITC-PNA: *Fluorescein isothiocyanate-Peanut Agglutinin*.

MAPK: Proteinquinasas activadas por mitógenos.

MMA: Mastitis Metritis Agalactia.

PBS: *Phosphate buffered saline*.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

PCV2: Circovirus Porcino tipo 2.

PI: Yoduro de propidio.

PRRS: Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino.

US: Ultrasonido.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Antecedentes**

Uno de los objetivos más importantes en la producción porcina es aumentar la eficiencia biológica de los animales en función de su crecimiento y reproducción. Entre los factores que afectan el cumplimiento de ese objetivo está la pérdida de salud de los cerdos; es por esto, que el conocimiento de las patologías y su distribución es vital para que se puedan elaborar e instaurar medidas de orientación al productor (Pelliza et al., 2007). El propósito de la investigación clínica es identificar anormalidades que están presentes y los factores de riesgo que determinan la ocurrencia de una enfermedad en un individuo o un hato (Hill, 1995; Cockcroft, 2007). De esta manera, se puede determinar el proceso patofisiológico que ocurre, la severidad del mismo e inferir en la epidemiología (Harris, 2000; Cockcroft, 2007). El manejo reproductivo es fundamental para alcanzar índices óptimos que siempre van a significar una mejor rentabilidad de la inversión, dentro de la explotación porcina moderna (García et al., 1999).

En distintas granjas porcinas de Costa Rica se ha reportado que las afecciones respiratorias, seguidas de las afecciones digestivas y reproductivas, son los problemas más frecuentemente encontrados en dichas explotaciones. Los problemas reproductivos que más se reportaron incluyen un aumento en el retorno a celo, disminución en la tasa de parición y aumento del intervalo destete-celo (Batista, 1999). Por otra parte, Solano (1999) reporta en su práctica dirigida “Clínica de especies productivas con énfasis en bovinos y suinos”, que la casuística más importante es la presencia de criptorquidismo unilateral en verracos

(35,56%) y la diarrea en lechones (18%). Cruz (2000) reporta en su práctica dirigida, que entre los problemas más frecuentes encontrados en cerdos, se destacan el retardo en el crecimiento (25%), enfermedades respiratorias (17.5%) y poliartritis (15%). Entre las enfermedades respiratorias, la micoplasmosis es la más frecuentemente diagnosticada por signos clínicos y hallazgos de necropsia (Cruz, 2000). En conclusión, se denota que los problemas reproductivos tienen un importante lugar en la casuística de nuestro país. En Estados Unidos se reportan como las patologías más frecuentes los abortos, las repeticiones, reducciones en el número de la camada y cerdos con bajo peso al destete (Novartis Animal Health, 2008).

La comprensión adecuada de la reproducción porcina, así como de los procedimientos de crianza, es un requisito esencial para diagnosticar problemas reproductivos. La baja fertilidad en verracos depende de factores como nutrición, estrés, problemas de libido, infecciones, defectos anatómicos, así como causas genéticas (Gordon, 1997; Cockcroft, 2007; Bascuas et al., 2010). El análisis y control de la calidad del semen tiene gran importancia en el mejoramiento reproductivo. Los parámetros más importantes a evaluar incluyen concentración, morfología, y sobre todo motilidad espermática (Bascuas et al., 2010). Los centros de inseminación artificial descartan verracos cuando empiezan a presentar problemas de fertilidad o baja calidad seminal debido a causas desconocidas. En algunos casos, la razón para eliminarlos es una patología de testículos la cual se manifiesta como una baja calidad seminal o baja fertilidad (Bascuas et al., 2010). Por esta razón, es importante realizar prácticas de manejo apropiadas con el fin de obtener un adecuado rendimiento de los verracos (Levis, 1997).

## 1.2. Justificación

El propósito primario de la producción de cerdos es proveer alimento para consumo humano, por lo cual es importante garantizar la calidad de la carne de cerdo y la eficacia de su producción. El cerdo crece rápidamente y se reproduce a un ritmo rápido (Kyriazakis y Whittemore, 2006).

La reproducción tiene un impacto significativo en la eficacia y la productividad de los sistemas de producción porcinos. En los sistemas contemporáneos, una cerda reproductora puede pasar aproximadamente el 90% de su vida ya sea preñada o lactando, mientras que el 10% (solo 17 días del año) en promedio, son no productivos en las unidades porcinas del Reino Unido. Dado que los costos de reproducción (labor de parto, espacio y alimentación) son similares, sin importar si una cerda produce 16 ó 26 lechones por año, el número de lechones viables producidos por cerda es el factor más importante en la eficiencia de las unidades comerciales (Taylor, 1992; Kyriazakis y Whittemore, 2006). El fracaso reproductivo es la causa más común de eliminación, esto significa que también es la principal causa de días no productivos de las cerdas. El costo por cerda (vacía o no productiva) puede alcanzar, fácilmente, los 3 dólares estadounidenses por día (Ptaszynska, 2007).

Es importante tener presente que la expresión de cualquier parámetro reproductivo depende de la base genética del cerdo y de su entorno (Ptaszynska, 2007). El mantenimiento de un estado saludable es un importante requisito que permite al cerdo expresar su potencial genético para maximizar la productividad, rendimiento reproductivo y

producción de carne magra. Esta es la razón por la cual la clínica de cerdos debe orientarse a la prevención y no al tratamiento de enfermedades, pues las pérdidas económicas que éstas acarrearán son importantes (Cowart, 1995; Alexander y Muirhead, 2001). Ciertamente, hay consecuencias económicas significativas si se realiza un diagnóstico incorrecto de una enfermedad. Por esto se busca que el examen clínico establezca un diagnóstico preciso, para establecer el riesgo de la ocurrencia de una enfermedad en un hato, así como para establecer medidas preventivas eficientes (Houston et al., 2000).

Por esta razón, es de suma importancia garantizar un buen manejo clínico y reproductivo de los animales mediante una alimentación adecuada, un manejo acertado y la implementación de estrategias y técnicas de reproducción que favorezcan el desarrollo de animales sanos. Con esta pasantía se pretendió fortalecer y adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para incursionar en el sector porcino de nuestro país.

### **1.3. Objetivos**

#### *1.3.1. Objetivo general*

- Desarrollar nuevos conocimientos en las áreas de clínica y reproducción de porcinos.

#### *1.3.2. Objetivos específicos*

- Adquirir conocimientos sobre los diferentes abordajes clínicos y las técnicas de diagnóstico utilizadas en el manejo de casos clínicos en porcinos.
- Obtener destrezas en las técnicas y procedimientos comúnmente utilizados en reproducción de porcinos.

- Conocer acerca de la casuística más relevante en la clínica de cerdos en la región de Hannover, Alemania.

## **2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y METODOS**

La pasantía tuvo una duración de 3 meses, iniciando el 01 de febrero y finalizando el 30 de abril del 2011. La práctica fue realizada en la Escuela Superior de Medicina Veterinaria de Hannover, Alemania y se trabajó en 3 secciones diferentes: 1) Instituto de Medicina Reproductiva, 2) Clínica de Cerdos, 3) Estación Epidemiológica Bakum. Además, se realizaron visitas a fincas porcinas en la región de Melle.

### **2.1. Instituto de Medicina Reproductiva**

En este instituto se trabajó durante 7 semanas con los Drs. Heiko Henning, Alexandra Bölling, Jana Nitz, Julia Batz, Alex Schevchenko y Susanne Schmid. Esta unidad cuenta con 10 verracos, a los cuales se les realizó examen andrológico, colecta de semen y, análisis de semen, tanto a nivel macroscópico como microscópico (concentración, pH, morfología y motilidad).

La evaluación andrológica se realizó de la siguiente manera: primeramente se llevó a cabo la examinación de aplomos, condición corporal e integridad de la piel. Se procedía a la evaluación de los testículos, lo que incluía la valoración del escroto, que no presentara heridas y/o tumores, y que se encontrara cumpliendo su función de acuerdo al clima. Se evaluaban los testículos y su consistencia para descartar patologías como posibles calcificaciones o tumores y degeneración testicular; el tamaño, que fuera similar en ambos testículos, con una longitud de 10-15cm y un ancho de 6-7 cm aproximadamente; las secciones palpables del epidídimo (cabeza y cola), que tuvieran buena consistencia y una ubicación adecuada; y también se evaluaba el plexo pampiniforme.

Además, en ciertas ocasiones y como parte de las evaluaciones andrológicas, se realizaron ultrasonidos de los testículos con el fin de evaluar el estroma e identificar posibles alteraciones.

Se realizaron colectas de semen en verracos mediante el método del “doble guante”, colocando 2 guantes en la mano derecha con el fin de trabajar con la menor cantidad de gérmenes posibles. Tras el salto del verraco sobre el maniquí, el divertículo prepucial se limpiaba con la mano derecha, secando luego la abertura con una toalla de papel. Después de retirar el guante exterior, la punta del pene se fijaba igualmente con la mano derecha y mediante contracciones rítmicas de los dedos, se simulaban las contracciones del cérvix con lo que el pene terminaba de sobresalir y la eyaculación se lograba. El eyaculado se colectaba en un recipiente plástico tipo “termo” con una bolsa especial para colecta, previamente calentado a 38°C, excluyendo siempre la eyaculación clara inicial.

La evaluación del semen se realizaba inmediatamente después de realizada la colecta y consistió en un examen macroscópico, que comprendió volumen, color, olor y un examen microscópico, que incluyó concentración de espermatozoides, motilidad, morfología (cuyo protocolo de evaluación se detalla en el Cuadro 1), además de un examen físico químico (pH y osmolaridad).

### Cuadro 1. Protocolo para evaluación de la morfología espermática.

<b>Alteraciones del acrosoma</b>		<b>Alteraciones del cuello</b>	
Acrosoma normal		Fractura de cuello	
Acrosoma en disolución		<b>Alteraciones de la cola</b>	
Acrosoma disuelto		Forma de lazo	
<b>Alteraciones de la cabeza</b>		Enrollada	
Normal		Gota Citoplasmática Distal	
Forma de pera			
Elongada			

Imágenes por Rozeboom (2000).

Al ingresar las muestras al laboratorio, lo primero que se realizaba era el examen macroscópico. Posteriormente se medía la motilidad colocando, mediante el uso de una pipeta, una gota de la muestra entre un portaobjetos y un cubreobjetos y observándolo al microscopio. Al apreciar al microscopio, se determinaba si la mitad de los espermatozoides presentes en distintos campos visuales exhibían movimiento de progresión. Si la proporción era mayor (2/3) se procedía a determinar si la motilidad era de un 70, 80 o 90%, todo esto mediante cálculo subjetivo del evaluador. Tanto la punta de la pipeta, el portaobjetos como el microscopio se encontraban previamente calentados, a una temperatura de 38°C. En algunas ocasiones, la motilidad se midió a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la colecta de semen.

La concentración se midió mediante un fotómetro o mediante el uso de una cámara de recuento. Una vez obtenida la concentración, el semen se diluía y se preparaban las dosis. El diluyente utilizado era el *Beltsville Thawing Solution* (BTS), indicado para la conservación del semen de verraco durante 1-2 días, hasta un máximo de 3 días. La dilución del mismo se realizaba agregando el diluyente por partes, esperando unos minutos entre cada adición, esto con el fin de evitar daños en los espermatozoides.

La evaluación morfológica se llevaba a cabo tras la colocación de una muestra de semen en formol citrato en un preparado entre un portaobjetos y un cubreobjetos en un microscopio de contraste de fase en aceite de inmersión. Se realizaba el conteo de 200 espermatozoides. Los espermatozoides se clasificaban atendiendo a la presencia de alteraciones en el acrosoma, cabeza y cola de los mismos. Igual que con la motilidad, en ocasiones los defectos morfológicos se evaluaron a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la colecta de semen. En este caso, solo se contabilizaban 100 células y los defectos que se atendían eran los de cabeza, que son los que pueden variar.

Para determinar si una muestra de semen era de calidad adecuada, el análisis del mismo se basaba en las normas establecidas por la Asociación Central de Producción Porcina Alemana (Cuadro 2) (Busch y Waberski, 2010).

**Cuadro 2. Exigencias mínimas referentes a la calidad del esperma del verraco de acuerdo con las normas de garantía de la Asociación Central de Producción Porcina Alemana (Busch y Waberski, 2010).**

<b>Característica</b>	<b>Exigencia mínima</b>
Color	Blanquecino
Consistencia	Lechosa
Impurezas (orina, sangre, pus)	Ninguna
Suciedades (pelos, partículas de heces)	Ninguna
Olor	Neutro
Volumen (ml)	100
Concentración (10 <sup>9</sup> /ml)	≤ 9 meses: 150 > 9 meses: 200
Espermatozoides motiles (%)	70
Espermatozoides motiles hasta 72h en conservación (%)	65
Espermatozoides con defectos morfológicos (%)	≤ 25
Espermatozoides con alteraciones en cabeza (%)	≤ 5
Espermatozoides con alteraciones en acrosoma (%)	≤ 10
Espermatozoides con gota citoplasmática (%)	≤ 15
Espermatozoides con lazo (%)	≤ 15
Otros defectos morfológicos (%)	≤ 15

Además se realizaron ultrasonidos en cerdas para evaluar la función ovárica y así realizar detección de estro. La práctica consistía en la evaluación de los ovarios, identificando y midiendo los folículos presentes en cerdas en estro, cuyo tamaño esperado debía ser de unos 8-10mm. El objetivo fue identificar las cerdas cercanas a ovular para utilizarlas en el proyecto de los estudiantes de doctorado, en el cual mediante cirugía se infiltraba un cuerno uterino con plasma seminal y otro con solución salina fisiológica y posteriormente se realizaba la extracción de los ovarios, con el fin de obtener las células de la granulosa y foliculares, e incubarlas en plasma seminal y en solución salina para estudiar las diferencias con respecto al momento en que se da la ovulación.

Sumado a esto, se realizaron varias prácticas para familiarizarse con técnicas especiales de espermatología como lo son microscopía de fluorescencia, citometría de flujo,

aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas y ensayos para determinar la capacidad de fijación de los espermatozoides al oviducto como una prueba complementaria a la evaluación de la funcionalidad de los espermatozoides.

Gran parte de la práctica consistió en capacitarse en el manejo de equipo de laboratorio utilizado para el análisis de semen proveniente de los verracos del mismo Instituto. Debido a que el Instituto ejecuta únicamente proyectos de investigación y no venta de servicios, la practica generalmente fue demostrativa o se trabajó con muestras de las cuales se desconocían los datos del animal.

#### *2.1.1. Microscopía de fluorescencia*

La microscopía de fluorescencia se realizó mediante el uso de distintos tintes que se agregaban a muestras de semen con el fin de teñir los espermatozoides que presentaban alteraciones en el acrosoma o membrana plasmática. Las tinciones utilizadas durante la práctica fueron el 4', 6diamidino-2-fenilindole, dilactato (DAPI), Yoduro de propidio (PI), Hoechst 33342, y *Fluorescein isothiocyanate-Peanut Agglutinin* (FITC-PNA).

Los tintes se utilizaron individualmente o en combinación (por ejemplo, PI junto con FITC-PNA o Hoechst con PI), se agregaron a distintas muestras de semen y se dejaron reposar durante 5 min. Posteriormente, con el uso de una pipeta, se tomó una gota de la muestra y se montó entre un portaobjetos y un cubreobjetos y luego se observaron en un microscopio de fases.

### *2.1.2. Citometría de flujo*

La técnica consistió en combinar uno o más tintes con determinadas muestras de semen, utilizando las mismas tinciones empleadas para la microscopía de fluorescencia. La muestra se dejó reposar durante 5 minutos, se mezcló y se depositó 10 µl de la misma en un tubo. Este tubo se adaptó a una manguera del citómetro de flujo, la cual absorbió la muestra y permitió el análisis de la misma, cuya interpretación será desarrollada más adelante en los resultados.

### *2.1.3. Ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto.*

La realización de la prueba se llevó a cabo de la siguiente forma:

1. Se tomaron oviductos de úteros obtenidos de matadero y se procedió a seccionarlos longitudinalmente. Los oviductos se mantuvieron en solución PBS.
2. Con el uso de un estereoscopio, se cortaron las estriaciones de los oviductos para obtener segmentos ciliados.
3. Los segmentos obtenidos se evaluaron al microscopio con el fin de seleccionar los cilios con actividad adecuada.
4. Una vez seleccionados, dichos segmentos se trasladaron en un tubo Eppendorf que contenía 1ul de solución Tyrode B y se refrigeraron.
5. Se esperó a que la muestra de semen, la cual se encontraba refrigerada, se atemperara por 30 min.
6. Los tubos Eppendorf se colocaron en una cámara a 17°C, durante 5 min.
7. Se agregaron 200ul de semen y se dejó reposar durante 15 min.

8. Se procedió a trasladar los segmentos a un nuevo tubo Eppendorf con Tyrode B.
9. Se tomó una muestra de segmento y se montó en un portaobjetos, en una gota de solución PBS.
10. Se procedió a observar al microscopio de fases los espermatozoides teñidos que se adhirieron a los segmentos de oviducto.

#### *2.1.4. Aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas*

El aislamiento de ovocitos se realizó utilizando ovarios de cerdas recolectados de mataderos. El ovario se manipuló con unas pinzas quirúrgicas y así se seccionaron los folículos deseados con el escalpelo, los cuales debían ser de un tamaño de 3-5mm.

En un vidrio de reloj se realizó un lavado a los folículos con una jeringa la cual contenía Cloruro de sodio (NaCl) 0,9% con suero de ternero (FCS) 1%. Con ayuda de un estereoscopio, se aspiró todo el líquido innecesario para permitir tener una mejor visión de las células.

Se colectaron los ovocitos con una pipeta Pasteur larga y fina y se colocaron en platos para cultivo (diámetro de 3cm) con solución PBS tibia y FCS al 10%. Por último, se desnudaron los ovocitos, eliminando las células del cúmulo para facilitar la tinción de los mismos.

Para la tinción de la fase nuclear de los ovocitos se utilizó una tinción de acetato-orceína al 2%. Una vez desnudados los ovocitos, se colocaron en un medio libre de proteína

(Cloruro de potasio (KCl) 0,7%). Luego se colocó una gota de una mezcla de parafina y vaselina en cada esquina de un cubreobjetos, en medio del cubreobjetos se colocó una gota de KCl (50ul) y se colocaron los ovocitos sobre esta gota.

Se colocó el portaobjetos sobre la gota, se volteó y se presionó cuidadosamente las gotas de parafina/vaselina, teniendo cuidado de no realizar una presión excesiva pues esto puede destruir los ovocitos.

## **2.2. Clínica de Cerdos**

En esta Clínica se trabajó con el Profesor Michael Vendt durante 2 semanas. Se realizó una visita a una finca porcina con problemas respiratorios, de la cual se trajeron 2 animales a la Clínica de Cerdos para realizarles lavados broncoalveolares, en busca de patógenos característicos del sistema respiratorio, y toma de muestras sanguíneas.

Además se le dio seguimiento a un caso clínico procedente del Instituto de Medicina Reproductiva.

## **2.3. Estación Epidemiológica de Bakum**

En esta Estación se trabajó con la Profesora Elisabeth große Beilage durante 2 semanas. Se realizaron visitas a fincas con problemas específicos, se tomaron muestras sanguíneas e hisopados nasales y se realizaron necropsias. En total se visitaron 4 fincas.

## 2.4. Melle

En Melle se trabajó en práctica privada con las Drs. Inge Böhne y Svenja Lösken durante 2 semanas. Las principales actividades realizadas consistieron en visitas a fincas para evaluación del manejo de las mismas y análisis de la producción, ultrasonografía en cerdas para detección de preñez, vacunación, evaluación de pulmones de cerdo en matadero y castración de lechones criptórcidos, en cuyo caso el protocolo de anestesia utilizado fue de Xilacina (Stresnil®) y Ketamina (Ursotamin®) a una dosis de 0.1ml/kg de cada anestésico, administrados de forma conjunta. En total se visitaron 11 fincas.

En la Clínica de Cerdos, la Estación Epidemiológica Bakum y en Melle se realizaron visitas a fincas en las cuales se procedía de la misma manera.

Inicialmente se conversaba con los productores acerca de la situación, las principales inquietudes y problemas de la misma. Además se recolectaban datos acerca de la historia de la granja así como del manejo de la misma.

Posteriormente se realizaba una inspección de cada uno de los apartos de la finca, poniendo especial atención a la condición de los animales, identificando los que presentaban alguna sintomatología clínica. Se evaluaba también las instalaciones y la condición de la finca en general, incluyendo infraestructura, comederos, bebederos, así como la higiene de la misma.

Una vez terminada la inspección se decidía, según ameritaba el caso, realizar la toma de distintas muestras o proceder a sacrificar animales con el fin de realizar necropsia. Las

muestras tomadas consistieron en hisopados nasales, lavados broncoalveolares y muestras sanguíneas. Dichas muestras se enviaban al laboratorio para su análisis, sobre todo cultivo bacteriológico, PCR y ELISA según fuera el caso. Al llegar el diagnóstico, se contactaban a los propietarios de las fincas para darles las recomendaciones pertinentes para implementar en la finca, las cuales podían ir desde cambios en el manejo, administración de terapia antibiótica o vacunación.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1. Reproducción

En el Cuadro 3 se pueden observar las distintas actividades realizadas en el área de reproducción, incluyendo tanto la práctica laboratorial como la clínica.

**Cuadro 3. Actividades realizadas en el área de reproducción durante la pasantía**

<b>Actividades realizadas</b>	<b>Cantidad</b>
Examen andrológico	3
Colecta de semen	14
Análisis de muestras de semen (macro y micro)	10
Ultrasonido de testículos	2
Ultrasonido para medir la funcionalidad ovárica	12
Cirugía para extracción de folículos ováricos.	2
<i>Espermatología especial</i>	
Microscopía de fluorescencia	3
Citometría de flujo	6
Ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto	2
Aislamiento y tinción de ovocitos de ovarios de cerdas.	2
<b>Total</b>	<b>56</b>

En el área de cerdos, la parte reproductiva tiene gran relevancia, pues si ésta se encuentra afectada, las implicaciones que conlleva a nivel de la productividad de una finca son muy importantes. Por esta razón se deben implementar las medidas, técnicas y procedimientos necesarios que permitan una evaluación constante de la salud reproductiva de los animales.

Durante esta pasantía se realizaron 3 evaluaciones andrológicas completas que, como se explicó anteriormente, incluían una evaluación tanto del sistema apendicular como del

sistema reproductor. El objetivo de realizar dichas evaluaciones era familiarizarse con el procedimiento, llevando un orden en las pautas por evaluar, con el fin de no dejar de lado ningún detalle. Aunque muchas veces es una práctica que se deja de lado o a la que no se le toma la importancia debida, la evaluación física y del sistema reproductor del verraco es clave para conocer la condición del animal. Por ejemplo, una evaluación de los testículos permite identificar algún defecto o condición anormal en el escroto que puede también tener un efecto adverso en la producción de células espermáticas. Una orquitis o una inflamación del escroto, así como la presencia de fiebre puede causar degeneración testicular en verracos de fertilidad normal previamente demostrada (D'Allaire et al., 2006).

Se realizaron un total de 14 colectas de semen, igualmente para familiarizarse con la realización correcta del procedimiento. Es de vital importancia conocer, que tanto una técnica adecuada de extracción de semen, como el cumplimiento de normas de higiene, son indispensables para lograr obtener muestras apropiadas, además de tener en cuenta la particular sensibilidad que tiene el espermatozoide del verraco a la temperatura. Un descenso térmico por debajo de 15°C resulta nocivo para los espermatozoides del cerdo (Busch y Waberski, 2010).

Se llevaron a cabo 10 análisis, tanto macroscópico como microscópico, de muestras de semen. Al ser un Instituto de investigación, no se logró contar con resultados precisos de dichos análisis, sin embargo, a grosso modo se puede decir que los defectos morfológicos fueron los más comunes, siendo las alteraciones de la cabeza del espermatozoide los de mayor número. La evaluación de muestras de semen es un ejercicio fundamental para determinar la calidad de la misma para poder ser utilizada en las prácticas de inseminación

artificial En un estudio de campo pudo evidenciarse, que la variación en el número de lechones en las camadas podía explicarse hasta en un 25% por la variación de los parámetros de motilidad (Busch y Waberski, 2010). En el caso de la evaluación morfológica, se debe prestar especial atención a la presencia de gotas citoplasmáticas, pues existe una correlación negativa entre la presencia de la misma y las tasas de gestación. La presencia de un 20% de gota citoplasmática significa el desecho del eyaculado para futuras utilidades. Por otra parte, parámetros como desviaciones en la osmolaridad o el pH pueden obedecer a enfermedad de las glándulas sexuales accesorias, lo cual puede influir sobre la vitalidad de los espermatozoides (Busch y Waberski, 2010).

El manejo y uso de diluyentes adecuados es una práctica importante para asegurar tanto la viabilidad de los espermatozoides como adecuadas dosis de inseminación, es decir, que tengan una concentración espermática que permitan la fertilización. Es necesario minimizar las diferencias entre temperatura, osmolaridad y pH entre el diluyente y el semen con el fin de mantener una alta viabilidad espermática durante el proceso de dilución (D'Allaire et al., 2006).

Por otra parte, se realizaron 2 exámenes ultrasonográficos de los testículos con el fin de familiarizarse con la técnica, permitiendo así evaluar el estroma, la homogeneidad del mismo y prestando atención a posibles acúmulos de líquidos o indicios de degeneración testicular. Además, para valorar los vasos y observar la entrada del epidídimo en testículo.

Se llevaron a cabo 12 ultrasonidos en cerdas para evaluar los ovarios y determinar la presencia de folículos característicos de estro. Se pudieron observar folículos de tamaños que iban desde los 3mm hasta los 8mm.

De las cerdas evaluadas dos de ellas fueron utilizadas para las cirugías de extracción de folículos. A una de ellas, se le extrajeron los ovarios con sus folículos para la incubación de las células de la granulosa y foliculares en plasma seminal. A la otra cerda, se procedió inicialmente a infiltrar un cuerno uterino con plasma seminal y el otro con solución salina, y al día siguiente se le extrajeron los ovarios para el mismo propósito descrito.

### *3.1.1. Técnicas de espermatología especial utilizadas en el Instituto de Medicina*

#### *Reproductiva.*

De alguna u otra forma las técnicas de espermatología especial tienen gran relevancia pues permiten evaluar parámetros, condiciones y aspectos importantes para determinar la calidad seminal, que otras técnicas básicas no permiten establecer. Estas técnicas son indicadas en casos de fertilidad disminuida con signos clínicos encubiertos y normospermia, para controlar la calidad de esperma conservado y para estudios experimentales sobre fisiología de los espermatozoides y conservación de esperma (Busch y Waberski, 2010).

### *3.1.1.1. Microscopía de fluorescencia*

Dependiendo de los fluorocromos (marcadores fluorescentes) utilizados, la microscopía de fluorescencia permite determinar la integridad morfológica de la membrana plasmática, ubicar el núcleo de las células, teñir el ADN, identificar células vivas, entre otros. Los fluorocromos utilizados permeables o impermeables. Con preferencia se utilizan pigmentos impermeables para la membrana. Así, solo los espermatozoides con defecto, y por ello permeables para el colorante, resultan marcados en su membrana. La fluorescencia permite ubicar células por sus núcleos, estudiar mitosis, ciclo celular, apoptosis; tinción de ADN, componentes celulares y organelas (Busch y Waberski, 2010).

En esta pasantía se realizaron 3 microscopías de fluorescencia en las cuales se observaron espermatozoides teñidos con las distintas tinciones utilizadas, que de acuerdo al color eran sugestivas de determinada alteración en la célula espermática.

Los tintes utilizados fueron los siguientes:

- 4', 6diamidino-2-fenilindole, dilactato (DAPI)

El DAPI es un fluorocromo en agua, que tiene la propiedad de teñir el núcleo celular. Este emite una fluorescencia azul al unirse al ADN (Busch y Waberski, 2010).

- Yoduro de propidio (PI)

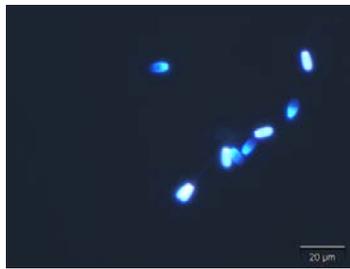
Es un tinte rojo fluorescente. Debido a que este no es permeable en células vivas, se utiliza comúnmente para detectar células muertas. Penetra la membrana plasmática dañada y tiñe la cabeza color rojo (Busch y Waberski, 2010).

- Hoechst 33342

Como se muestra en la Figura 1, es un tinte que emite fluorescencia azul cuando se liga al ADN (Busch y Waberski, 2010).

- *Fluorescein isothiocyanate-Peanut Agglutinin* (FITC-PNA)

Esta combinación de tintes se une a la membrana externa del acrosoma y tiñe los acrosomas defectuosos de color verde (Busch y Waberski, 2010).



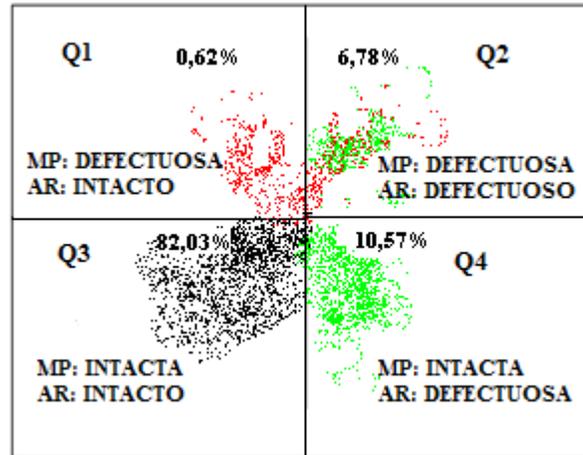
**Figura 1. Espermatozoides observados al microscopio de fases una vez teñidos con la tinción Hoechst 33342.**

### 3.1.1.2. Citometría de flujo

En la citometría de flujo los espermatozoides se marcan con fluorocolorantes específicos, de forma similar como en la microscopía de fluorescencia. Tras la estimulación de la muestra mediante luz láser, se detecta fluorescencia procedente de las células. Se produce fluorescencia, cuando una molécula que puede estimularse con una luz de determinada longitud de onda  $\lambda$ , regresa al estado basal y por ello emite luz de mayor longitud de onda. Mediante la presencia y la intensidad de la fluorescencia se pueden obtener conclusiones sobre el estado morfológico y funcional de las células. La ventaja de

esta técnica es que caracteriza a cada célula en forma individual, sin perder ningún dato. En pocos segundos, se determinan y analizan datos de más de 10 000 células (Busch y Waberski, 2010).

En total, se realizaron 6 evaluaciones mediante la citometría de flujo. Una vez analizada la muestra, la pantalla del citómetro de flujo mostró 4 cuadrantes (Q1-Q4) en los cuales se observaron los porcentajes de células con acrosoma y membrana plasmática intacta o defectuosa. Las células espermáticas se representaron con puntos, en los que los de color rojo correspondieron a espermatozoides con daños en la membrana plasmática y los verdes, espermatozoides con daños en el acrosoma. Las células intactas no presentaron coloración alguna. El cuadrante 1 (Q1) mostró puntos rojos, correspondiente a espermatozoides con defectos en la membrana plasmática; el cuadrante 2 (Q2) mostró puntos rojos y verdes, que correspondió a espermatozoides con daños tanto en la membrana plasmática como en el acrosoma; el cuadrante 3 (Q3) mostró puntos negros, los cuales correspondían a espermatozoides sin daños; y por último, el cuadrante 4 (Q4) mostraba puntos verdes representando los espermatozoides con daños en el acrosoma (Figura 2). Lo ideal es que por lo menos un 75% de células estén intactas, lo que significa  $Q3 \geq 75\%$ .



**Figura 2.** Representación de las distintas poblaciones de células observadas en la citometría de flujo de acuerdo al estado de la membrana plasmática y el acrosoma en las células espermáticas (MP: membrana plasmática; AR: acrosoma).

La citometría de flujo se cuenta entre los métodos semicuantitativos más eficaces que se caracteriza por una gran capacidad de repetición, de estandarización y de objetividad. Dependiendo de los marcadores fluorescentes que se elijan, la citometría de flujo permite sacar conclusiones sobre la integridad y otras propiedades fisiológicas, bioquímicas y funcionales de los espermatozoides de una muestra. Es así como la integridad de la membrana está más estrechamente relacionada con la capacidad de fecundación que la misma motilidad (Busch y Waberski, 2010). En los últimos años se ha puesto atención especial a la integridad de la membrana plasmática, pues se considera que espermatozoides con daños en esta, son incapaces de fertilizar (Rodríguez et al., 2009).

### 3.1.1.3. Ensayos de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto

El ensayo de adhesión de espermatozoides al epitelio del oviducto es una herramienta importante que está emergiendo para la evaluación de la funcionalidad espermática. Se

evalúa la calidad de la membrana plasmática para las múltiples funciones necesarias para el proceso de fertilización (Rodríguez et al., 2009). La prueba consiste en determinar el número de espermatozoides que se fijan a los diferentes segmentos de oviducto. Con este test se determina la fijación y penetración de los espermatozoides, es decir, la capacidad de la membrana plasmática de los espermatozoides de interactuar con el epitelio del oviducto como propiedad necesaria para establecer espermatozoides funcionales en los genitales de la hembra (Busch y Waberski, 2010). Dado que la adherencia al epitelio del oviducto estabiliza al espermatozoide y le facilita su sobrevivencia en un ambiente hostil, es claro que la habilidad de estas células de adherirse al oviducto son un importante atributo estrechamente relacionado a la capacidad de fertilizar (Rodríguez et al., 2009).

En este caso no solo se realizó el test, sino que además se probó el uso de distintas tinciones, siendo esto lo innovador de dicha prueba, pues normalmente se realiza sin ningún tipo de tinte. El objetivo era encontrar la concentración adecuada del tinte, que permita colorear los espermatozoides, sin provocar la muerte de los mismos. Los resultados de esta prueba son confidenciales, sin embargo, en las dos ocasiones en que la prueba se realizó, sí se observaron los espermatozoides teñidos, interactuando con el epitelio del oviducto.

#### *3.1.1.4. Aislamiento de ovocitos de ovarios de cerdas.*

El aislamiento de ovocitos se realiza tanto para fines de investigación (maduración *in vitro*) como para prácticas de fertilización *in vitro*. Los ovocitos se aíslan de folículos de 3-5mm de tamaño debido a que tendrían mejor capacidad para continuar con su maduración y desarrollo *in vitro* (Fernández et al., 2010).

Uno de los propósitos ha sido estudiar el papel de las proteinquinasas activadas por mitógenos (MAPK) durante el desarrollo y envejecimiento de los ovocitos posterior a la maduración *in vitro* de los mismos. Se ha determinado que las MAPK están involucradas en la reanudación de la meiosis, la organización de los microtúbulos y el desarrollo de la metafase II, y que su actividad decrece durante el envejecimiento de los ovocitos (Ebeling et al., 2010). Otra razón ha sido el estudio de la síntesis de hormonas esteroideas por parte de las células del cúmulo durante la maduración *in vitro* de los ovocitos y la influencia de la actividad de las MAPK (Ebeling et al., 2011).

El tema más reciente ha sido el de obtener conocimientos acerca de la competencia de desarrollo de los ovocitos obtenidos de folículos de diferentes tamaños.

Los ovocitos obtenidos de ovarios de animales de matadero pueden ser madurados, fertilizados y cultivados *in vitro* hasta estados avanzados del desarrollo embrionario. El diámetro del ovocito y la morfología del complejo cúmulo-ovocito son buenos indicadores de la competencia ovocitaria para producir embriones. (Fernández et al., 2009). Una vez que los complejos cúmulo-ovocito han madurado y los espermatozoides han sido capacitados *in vitro* se hace la fertilización *in vitro* para que ocurra la penetración de espermatozoides capacitados en los ovocitos madurados. Los embriones obtenidos pueden ser transferidos a receptoras sincronizadas o congelados (Fernández et al., 2009). El Instituto se maneja por medio de acuerdos con ciertos veterinarios y compañías dedicadas a reproducción para realizar estas prácticas, sin embargo, debido a que su aporte llega hasta la transferencia de embriones, se desconoce la viabilidad de estos y los porcentajes de preñez.

En total se realizaron 2 ensayos para aislamiento de ovocitos; uno de ellos se llevó a cabo hasta el desnudamiento de los mismos y el otro se hizo de forma completa, incluida la tinción, como se explica en el apartado de Metodología.

### 3.2. Clínica

Se visitaron un total de 18 granjas porcinas alrededor de la región de Hannover, Melle y Bakum en Alemania.

Un total de 3 granjas porcinas se visitaron con el propósito de realizar ultrasonido en cerdas para diagnóstico de preñez (alrededor de 24 días o más) y 7 granjas para vacunar cerdas contra diferentes agentes infecciosos como lo son Parvovirus, *Erysipelothrix rhusopathiae*, Influenza Porcina, PRRS, PCV2, *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis*.

Además, una de las visitas se realizó con el fin de castrar 20 lechones con hernias inguinales y criptórquidos.

Por último, en 7 granjas se evaluaron problemas específicos de las mismas. El Cuadro 4 muestra un resumen de las distintas actividades realizadas durante la práctica.

**Cuadro 4. Actividades realizadas durante las visitas a las fincas**

<b>Actividad</b>	<b>Cantidad de veces que se realizó</b>
Vacunación	3
US para diagnóstico de preñez	7
Castración de lechones	1
Visita a finca para diagnóstico de problemas clínicos	7
<b>Total</b>	<b>18</b>

En varios casos se pudo confirmar la importancia de realizar un adecuado manejo sanitario a nivel de la finca como un factor clave para el control de distintas patologías, pues condiciones como malas prácticas de higiene (por ejemplo, una limpieza o desinfección inadecuada de las instalaciones), una ventilación inapropiada o altas concentraciones de amoniaco pueden complicar la sintomatología producida por agentes infecciosos, sobre todo en casos respiratorios. El hecho de que existan condiciones ambientales inadecuadas, producen efectos adversos en la salud y la productividad de los animales. Como ejemplo, en uno de los casos de enfermedad respiratoria se evidenció niveles de amoníaco entre 50 y 90 ppm esto mediante el uso de un analizador de gases portátil el cual midió, en el ambiente, las proporciones de gas amoniaco. Se ha demostrado que niveles de gases amoniaco de 50 a 75 ppm reducen la habilidad de cerdos jóvenes de eliminar bacterias de sus pulmones. En general, se recomendó que los niveles de amoniaco fueran menores a 25ppm (D'Allaire et al., 2006), esto mediante el mejoramiento de la ventilación del lugar, colocando más ventanas.

Con respecto a la sintomatología clínica se observó que los problemas respiratorios fueron los más importantes y frecuentes, pues alrededor de la mitad de los casos estuvieron relacionados con afecciones pulmonares, siendo *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, virus del PRRS y *Mycoplasma hyopneumoniae* los agentes infecciosos comúnmente aislados. Como se mencionó en los antecedentes del presente trabajo, se ha reportado que los problemas respiratorios son parte de la casuística más frecuente en las explotaciones porcinas de nuestro país, y en el caso de Alemania no es la excepción, en donde se ha demostrado que estos constituyen la principal causa de mortalidad en las áreas de destete y engorde (Kadlec, 2006).

Las enfermedades respiratorias en cerdos usualmente son de carácter multifactorial, generalmente involucran agentes bacterianos y virales, las condiciones ambientales y de manejo juegan además un rol importante. *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Mycoplasma hyopneumoniae* se consideran agentes bacterianos primarios y por ende, predisponen a infecciones secundarias (Kadlec, 2006).

En los casos clínicos de enfermedades respiratorias observados durante la pasantía, *Bordetella bronchiseptica* fue un agente común a todos ellos. Esta bacteria frecuentemente se encuentra en infecciones del tracto respiratorio de cerdos junto con virus y otras bacterias. Se ha demostrado que infecciones con *B. bronchiseptica* predisponen a infecciones secundarias con cepas toxigénicas de *Pasteurella multocida* y por lo tanto, juega un rol importante en la patogénesis de rinitis atrófica (Kadlec, 2006). Para su tratamiento se recomienda el uso de tetraciclinas debido a la susceptibilidad tanto de *B. bronchiseptica* como de otros patógenos respiratorios (Kadlec, 2006), lo cual se recomendó como tratamiento en los casos analizados, pues en todos se determinó además otros agentes.

En una de las fincas en la cual el problema principal fue un cuadro respiratorio, se determinó además la presencia de úlceras gástricas en 2 animales necropsiados. En este caso se recomendó analizar el tamaño de las partículas de alimento para determinar si existía relación con la presencia de úlceras gástricas. Se observó además un caso de Salmonelosis el cual será expuesto más adelante.

En una de las fincas se reportaron problemas reproductivos, que básicamente correspondieron a partos prematuros, lechones débiles y/o natimuertos, abortos, mastitis-metritis-agalactia (MMA) y aumento en el porcentaje de retorno a estro. La presencia de partos prematuros en este caso ocasionó una alta proporción de natimuertos y lechones de baja viabilidad. Fallos en la concepción o en el inicio y mantenimiento de la gestación se manifestaron en retornos a estro regulares o irregulares y abortos, los cuales se expresaron en bajas en la tasa de parición a nivel del hato (D'Allaire et al., 2006). Se recomendó enviar muestras de alimento al Instituto de Nutrición Animal para determinar si la composición del mismo era adecuada y suplía las necesidades básicas de las cerdas preñadas y lechones.

Se detectó además un problema severo de mastitis en una de las fincas visitadas. La clínica correspondía a pezones lacerados, inflamados y con infecciones, calientes al tacto. Esta condición, en muchas ocasiones, pasa desapercibida e incluso los mismos productores y peones no se toman el tiempo de hacer una evaluación de las glándulas mamarias de sus cerdas, ya que no saben lo que esto significa para la productividad de su finca. Esto porque en casos de mastitis agudas y crónicas, además de que se presentan lesiones necróticas y purulentas, la síntesis de leche puede comprometerse y, cuando son muchas glándulas las que están comprometidas, el crecimiento de los cerditos decrece (D'Allaire et al., 2006; Cockcroft, 2007). En este caso el tratamiento recomendado fue terapia antibiótica con enrofloxacin durante 7 días.

En esta finca donde se detectó mastitis, así como en el Instituto de Medicina Reproductiva, se detectaron problemas de patas. Los problemas locomotores en cerdas evidenciados en estos casos clínicos correspondieron a la presencia de abscesos y

articulaciones inflamadas. Estas situaciones, al afectar el bienestar de los animales, pueden traer consecuencias negativas en el rendimiento productivo y reproductivo de los mismos, donde se pueden observar animales postrados y reducción de la ingesta de alimento. Se ha reportado que el porcentaje de cerdas eliminadas por problemas locomotores puede variar entre un 9% a 20%; sin embargo, algunos reportes han indicado porcentajes tan altos como un 45% (D'Allaire et al., 2006). En el caso del Instituto, el problema evidenciado se basó en lesiones y abscesos en uno de los miembros posteriores de una cerda, lo cual se debió a peleas con otros animales, y en el caso de la finca, al ser cerdas estabuladas, el problema se pudo haber relacionado al movimiento reducido que tenían los animales (D'Allaire et al., 2006). El tratamiento recomendado fue terapia antibiótica con lincomicina.

De los casos clínicos observados durante la práctica, se desarrollaron 2 de especial importancia. Uno de ellos correspondió a *Salmonella typhimurium*, enfermedad de gran relevancia por sus consecuencias en salud pública al ser una zoonosis, y otro a *Mycoplasma hyopneumoniae*, agente infeccioso importante en el desarrollo de enfermedades respiratorias en cerdos.

### 3.2.1. Caso 1: Salmonelosis en finca porcina

#### 3.2.1.1. Datos, estructura y manejo de la finca

La finca se localizaba en Wellingholzhausen, Alemania. En sus cercanías se ubicaban 2 granjas porcinas, una a 400 m al este y otra aproximadamente a 700m-1km al oeste de la

misma. No existían ríos cercanos a la finca. Durante el año pasado se habían presentado temperaturas bajas, incluso para el verano. No se presentaron lluvias con gran frecuencia.

Contaba con 200 cerdas y 60 remplazos. Existía una sección para cerdas y 5 secciones en dos edificios para desarrollo. Presentaba además dos áreas de engorde: una con espacio para 600 y otra con espacio para 1200 animales para mercado. Estas 2 últimas áreas se encontraban separadas de la granja como tal.

La granja era manejada básicamente por la familia: los padres y uno de los hijos. Sin embargo, el hijo era quien se encargaba casi que por completo de la finca y sus padres le brindaban ayuda ocasionalmente. Una de las áreas de engorde era manejada casi que exclusivamente por el padre y la otra por el hijo.

La finca se manejaba como sistema cerrado. Producían sus propios remplazos, los cuales pasaban por un periodo de aclimatación de 5 semanas antes de ingresar con todo el hato. En dicho periodo recibían sus dos primeras vacunas (contra Parvovirus y *E. rhusiopathiae*).

Las cerdas inseminadas, al cumplir 14 días, se trasladaban a un área donde recibían alimentación individual, esto con el fin de mejorar la condición corporal de las mismas.

Tres días antes de la posible fecha de parto, las cerdas se bañaban y se trasladaban al área de maternidad. Aquí se alimentaban con alimento especial para lactación. Al primer día de vida, a los lechones se les realizaba corte de cola y al tercer día se les administraba

hierro inyectable, penicilina inyectable y se castraban. A los 5 días se les empezaba a dar leche en comederos y a los 14 días se empezaba a combinar con preinicio.

Los lechones eran destetados a los 27 días de nacidos y posterior a esto se les medicaba con colistina en el alimento durante 7 días.

El programa de vacunación que se manejaba fue el siguiente:

- Vacunación contra Parvovirus y *E. rhusiopathiae* al hato completo cada 5 meses.
- Vacunación específica adecuada a la finca contra *Clostridium perfringens* Tipo A. Se vacunaban las cerdas 2 veces antes del parto para brindar protección a cerdos lactantes.
- Vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* (Suvaxyn®M.hyo-one) y Circovirus (Circoflex®): en cerdos destetados, a la tercera semana de vida.

Sumado a esto, se realizaba desparasitación cada 5 meses con doramectina inyectable. Además, los lechones y las cerdas de remplazo se alimentaban con alimento en pellet.

Se realizaban control de roedores mediante la colocación de veneno en distintos puntos alrededor de toda la granja.

El agua que suplía la finca provenía de un pozo privado. Producían su propio alimento, el cual se almacenaba en un silo sin acceso a ningún tipo de animal.

### 3.2.1.2. Historia de la granja

Desde el 2007, la regulación para minimizar la presencia de Salmonella en cerdos de engorde, fue el inicio para la implementación de programas de control en mataderos y fincas.

A pesar de que en la finca nunca se observó ninguna sintomatología en los animales, como parte de dicho programa de control, el matadero al cual los cerdos fueron enviados decidió realizar un muestreo aleatorio, obteniendo resultados positivos, que fueron informados al dueño de la finca. Es así como en agosto del año 2010, se empezaron a tomar muestras de sangre y de heces en cada establo, además de muestras ambientales de polvo y heces de pavo reales que andaban alrededor de la granja.

Las muestras ambientales tomadas en ese momento (agosto 2010) resultaron negativas, pero de las 16 muestras de sangre tomadas, 4 fueron positivas por anticuerpos contra Salmonella, correspondientes a cerdos de 5 meses de edad (Cuadro 5), esto mediante la prueba de ELISA en la que resultados superiores al 20% se consideran positivos.

**Cuadro 5. Diagnóstico de anticuerpos contra Salmonella (Antígeno-O 1, 4, 6, 5, 7 y 12) en suero mediante ELISA (Salmotype® Pig Screen)**

Número de caso	Identificación del animal	ELISA %	Interpretación
10/ 7354-1	Cerdo de desarrollo, 5 meses de edad.	36	Positivo
10/ 7354-2	Cerdo de desarrollo, 5 meses de edad.	33	Positivo
10/ 7654-3	Cerdo de desarrollo, 5 meses de edad.	56	Positivo
10/ 7654-4	Cerdo de desarrollo, 5 meses de edad.	53	Positivo
10/ 7654-5	Cerdo de desarrollo, 13 semanas de edad.	11	Sospechoso
10/ 7654-6	Cerdo de desarrollo, 13 semanas de edad.	19	Sospechoso
10/ 7654-7	Cerdo de desarrollo, 13 semanas de edad.	10	Sospechoso
10/ 7654-8	Cerdo de desarrollo, 13 semanas de edad.	2	Negativo
10/ 7654-9	Cerdo de desarrollo, 10 semanas de edad.	10	Sospechoso
10/ 7654-10	Cerdo de desarrollo, 10 semanas de edad.	1	Negativo
10/ 7654-11	Cerdo de desarrollo, 10 semanas de edad.	1	Negativo
10/ 7654-12	Cerdo de desarrollo, 10 semanas de edad.	2	Negativo
10/ 7654-13	Cerdo de desarrollo, 4 semanas de edad.	3	Negativo
10/ 7654-14	Cerdo de desarrollo, 4 semanas de edad.	1	Negativo
10/ 7654-15	Cerdo de desarrollo, 4 semanas de edad.	2	Negativo
10/ 7654-16	Cerdo de desarrollo, 4 semanas de edad.	1	Negativo

\*Muestras con valores por debajo del 10% se consideran negativas  
Muestras con valores entre 10-20% se consideran sospechosas.  
Muestras con valores arriba de 20% se consideran positivas.

En ese año también se muestrearon los cerdos de engorde, en los cuales se encontró, en las muestras de heces procesadas mediante cultivo bacteriológico y PCR, la presencia de *S. typhimurium* var. *Copenhagen* (Cuadro 6). Con todos estos resultados, la finca se ubicó en categoría III de Salmonella, cuyo significado será explicado más adelante.

**Cuadro 6. Diagnóstico de *S. typhimurium* mediante cultivo bacteriológico (A) y PCR en tiempo real (B) en heces.**

A	Número de caso	Cultivo bacteriológico			
	10/1886-82	Positivo para <i>Salmonella typhimurium</i> var. <i>Copenhagen</i>			

B	Número de caso	PCR			
		<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	<i>Brachyspira pilosicoli</i>	<i>Lawsonia intracellularis</i>	<i>Salmonella entérica</i>
	10/1886-82	Negativo	Negativo	Negativo	<b>Positivo</b>

Debido a que era un amplio establo con mucho espacio para roedores, se trató de mejorar la limpieza mediante un manejo todo dentro/ todo fuera, en el que todos los animales salían juntos de cada aparto, permitiendo una desinfección entre cada grupo que salía y entraba. El único establo en donde una limpieza y desinfección adecuada era imposible, era en el que se encontraban los remplazos, esto por ser un establo de madera vieja. Con esto, la infección se encontraba recirculando en la granja. Sin embargo, el mayor factor limitante fue tanto el manejo de la granja como el mismo propietario quien no acataba las recomendaciones (colocación de pediluvios, limpieza y desinfección adecuada, medidas para control de roedores).

En los últimos meses se logró que el propietario acatará una medida que consistía en acidificar el alimento de los cerdos de engorde, añadiendo ácido acético. Este se añadía al alimento en una proporción de 0,3%, sin afectar la palatabilidad del mismo. Además se intensificó el control de roedores mediante la colocación de veneno en distintos puntos de la granja y desde entonces, el porcentaje de muestras positivas disminuyó.

### 3.2.1.3. Inspección de la finca

El motivo de la visita fue la inspección de la finca, para determinar cómo se estaban acatando las recomendaciones para controlar la Salmonella. Anteriormente se había detectado un 80% de la finca comprometida, pero gracias a las medidas tomadas para su control, como el uso de ácido acético en la alimentación de animales de engorde, el problema se había reducido a un 50%, según muestreos realizados semanas antes a la visita.

A la inspección, se observaron cuadros diarreicos en las cerdas de remplazo. No se observó ningún tipo de sistema de desinfección a la entrada de las distintas áreas de producción. Además la limpieza de los establos era deficiente.

Se observó un cerdo con sintomatología nerviosa (ataxia) y edema a nivel de los ojos, sin embargo, el animal presentaba buena condición y no se encontraba postrado. Se sospechó de *E. coli* y/o *Streptococcus*, no se tomaron muestras para confirmar el diagnóstico presuntivo, pero se recomendó un tratamiento basado en dicha sospecha.

#### 3.2.1.4. Recomendaciones después de la inspección

Las recomendaciones emitidas al finquero después de la inspección de la finca fueron las siguientes:

- Colocar desinfección a la entrada de las diferentes áreas para evitar el esparcimiento de *Salmonella* en distintas áreas.
- Mejorar la higiene de los establos. Realizar cambio de botas en cada área.
- En el caso de los lechones con diarrea, administrar penicilina a los 3 y 10 días de vida.
- En el caso del cerdo con sintomatología nerviosa, administrar penicilina y amoxicilina durante 3 días.

#### 3.2.1.5. Resolución

El 3 de junio del 2011 se realizó un muestreo control para medir anticuerpos mediante ELISA (Cuadro 7). Se tomaron muestras de los establos donde se encontraban los reemplazos, cerdas y lechones, donde se pudo determinar que la presión por *Salmonella* disminuyó, debido seguramente a las medidas tomadas para el control de roedores. Los cerdos de desarrollo y engorde no se muestrearon en ese momento, pero se recomendó realizar más adelante.

**Cuadro 7. Detección de anticuerpos contra Salmonella (Antígeno-O 1, 4, 6, 5, 7 y 12) en suero mediante ELISA (Salmotype® Pig Screen)**

Número de caso	Identificación del animal	ELISA %	Interpretación
11/5917-1	Lechón de 4 semanas.	15	Sospechoso
11/5917-2	Lechón de 4 semanas.	1	Negativo
11/5917-3	Lechón de 4 semanas.	2	Negativo
11/5917-4	Lechón de 4 semanas.	5	Negativo
11/5917-5	Lechón de 4 semanas.	6	Negativo
11/5917-6	Lechón de 4 semanas.	17	Sospechoso
11/5917-7	Lechón de 7 semanas.	1	Negativo
11/5917-8	Lechón de 7 semanas.	1	Negativo
11/5917-9	Lechón de 7 semanas.	1	Negativo
11/5917-10	Lechón de 7 semanas.	1	Negativo
11/5917-11	Cerdo de 10 semanas.	1	Negativo
11/5917-12	Cerdo de 10 semanas.	1	Negativo
11/5917-13	Cerdo de 10 semanas.	1	Negativo
11/5917-14	Cerdo de 10 semanas.	1	Negativo
11/5917-15	Cerdo de 10 semanas.	3	Negativo
11/5917-16	Cerda primeriza de 4,5 meses.	12	Sospechoso
11/5917-17	Cerda primeriza de 4,5 meses.	10	Sospechoso
11/5917-18	Cerda primeriza de 4,5 meses.	10	Sospechoso
11/5917-19	Cerda primeriza de 3,5 meses.	1	Negativo
11/5917-20	Cerda primeriza de 3,5 meses.	1	Negativo
11/5917-21	Cerda primeriza de 3,5 meses.	1	Negativo

\*Muestras con valores por debajo del 10% se consideran negativas  
Muestras con valores entre 10-20% se consideran sospechosas.  
Muestras con valores arriba de 20% se consideran positivas.

### 3.2.1.6. Discusión

Actualmente en Alemania se trata de controlar y disminuir incidencia de Salmonella en las fincas porcinas mediante programas de monitoreo. La Unión Europea ha recomendado a los países productores de cerdos, el desarrollo de programas de control de salmonelosis, los cuales son obligatorios desde enero del 2007 (Carvajal et al., 2008).

En Alemania, el programa de control deriva del utilizado en Dinamarca, en el cual se ha logrado el control de la enfermedad mediante el monitoreo de los hatos y la eliminación de animales infectados (Bager et al., 2003). En Alemania el programa de control categoriza las fincas en grado I (0-20%), grado II (>20-40%) y grado III (>40%), de acuerdo al porcentaje de muestras positivas por ELISA, de un porcentaje de animales muestreados. Con base en los resultados obtenidos se implementan normas estrictas, en donde incluso los mismos mataderos advierten a fincas en categoría III, cerrarles las puertas y no ofrecerles más sus servicios si no implementan estas medidas de control (Bager et al., 2003).

Como se muestra en el presente caso, la finca se situó en categoría III de Salmonella. Los dueños con fincas en niveles II y III deben buscar ayuda para la implementación de medidas que favorezcan la reducción del problema, como los son cambios en la higiene, manejo y alimentación (Bager et al., 2003). Por este motivo, es que las doctoras realizaban visitas periódicas para supervisar al productor.

La salmonelosis es considerada una de las enfermedades más importantes transmitidas por alimentos debido a sus potenciales implicaciones en la salud humana (D'Allaire et al, 2006; Der Stede et al., 2010), al ser una de las causas más comunes de diarreas causadas

por alimentos a nivel mundial (Bager et al., 2003). El cerdo y los productos porcinos se consideran la segunda fuente más importante de casos en humanos, superado únicamente por los productos avícolas (Carvajal et al., 2008). Por esta razón, el entendimiento de la patogénesis de la infección por *Salmonella* es crítico para el control de esta en los hatos porcinos (Badiola et al., 2006), y los programas de control son primordiales en las iniciativas de seguridad de alimentos, en donde lo que se busca es ofrecer al mercado productos libres de *Salmonella* (D'Allaire et al, 2006).

Para el control de la enfermedad es importante conocer acerca del comportamiento de las distintas serovariedades de *Salmonella* durante la infección en cerdos (Carvajal et al., 2006). Según el estudio de Carvajal et al. (2006), existe una alta variabilidad entre los serotipos de *Salmonella* en lo que concierne a persistencia, distribución y diseminación fecal, lo cual debe ser considerado en los programas de control. La diseminación fecal fue constante en casi todos los animales infectados durante el experimento realizado por Carvajal et al. (2006) con *S. typhimurium* y *S. rissen*, probablemente como consecuencia de reinfecciones continuas.

En el estudio de Chow et al. (2010), realizado en granjas porcinas de las regiones de Alberta y Saskatchewan, Canadá, se determinó que *S. typhimurium* var. *Copenhagen* fue la segunda serovariedad más encontrada, hallándose en un 19.4% de las granjas estudiadas. Por otra parte, se ha convertido en la serovariedad más frecuente en las granjas porcinas de Ontario.

En el presente caso, se determinó una constante reinfección de los animales del hato, debido al sistema de flujo continuo. La limpieza y desinfección representan un punto crítico para lograr mantener en niveles bajos la diseminación y recirculación de *Salmonella*. Esto sobre todo porque la transmisión puede ocurrir de cerdo a cerdo, de ambientes contaminados a los cerdos o por transmisión vertical. Además que los cerdos diseminadores y los ambientes contaminados se consideran las mayores fuentes de nuevas infecciones (Lewerin et al, 2010). De ahí la importancia de que el productor realmente acatara las recomendaciones dadas, colocara pediluvios para desinfección a la entrada de cada establo y reforzara las medidas de higiene y limpieza dentro de los mismos, sobre todo recogiendo las heces con cierta regularidad durante el día y realizando al mismo tiempo una desinfección del lugar para evitar la diseminación del agente.

La ruta fecal-oral es considerada la más importante en la transmisión de *Salmonella* en los animales domésticos. Sin embargo, la presencia del agente en descargas nasales de cerdos infectados hace posible que este patógeno sea transmitido por contacto nariz-nariz. Debido a las altas densidades en granjas y las paredes fenestradas entre corrales, esta ruta de transmisión puede jugar un importante rol en la diseminación de *Salmonella* en los sistemas de producción intensivos (Carvalho et al., 2008). Los resultados arrojados en el estudio de Carvalho et al. (2006) sugieren que *S. typhimurium* puede ser transmitida mediante contacto nariz-nariz en cerdos destetados, con lo cual, dicha transmisión puede jugar un papel importante en la epidemiología del agente. Según el estudio de Chow et al. (2010), los establos que permitían el contacto nariz-nariz entre cerdos tuvieron un riesgo de 2.2 más veces de tener análisis positivos en ELISA por *Salmonella*, que los establos que no permitían dicho contacto, lo cual se considera un factor de riesgo. Sin embargo, una

intervención en este sentido no resultaría tan viable dado que esta condición es inherente al diseño de la granja y no es algo que un productor estaría dispuesto a cambiar tan fácilmente. Por otro lado, sí podría tomarse en consideración a la hora de diseñar y construir nuevos establos.

El uso de alimento en pellets resultó ser otro factor de riesgo en este caso, ya que se ha reportado una fuerte asociación entre el uso de este tipo de alimentos y el estatus de Salmonella en las granjas. La adición de ácido acético al alimento resultó ser una medida acertada, pues el uso de raciones acidificantes reducen la prevalencia de la bacteria. El alimento en pellets disminuye la acidez del estómago en los cerdos con respecto a partículas de alimento más gruesas, siendo así un coadyuvante en la supervivencia y colonización de Salmonella una vez ingerida por el cerdo. Es así como los esfuerzos en reducir los niveles de Salmonella en las granjas pueden orientarse a la acidificación o al cambio del alimento a partículas gruesas (Chow et al., 2010).

Las cerdas juegan un papel importante en el mantenimiento de infecciones por Salmonella en áreas de parto y de finalización (Der Stede et al., 2010). De acuerdo al estudio de Chow et al. (2010), en el cual se estudió la distribución de las serovariedades de Salmonella en las distintas áreas de producción, independientemente de la serovariedad presente, las cerdas tendieron a diseminar el agente 2.3 veces más que los cerdos en desarrollo y 4 veces más que los lechones. El control de Salmonella en estos hatos se realizó casi que solo mediante la implementación de medidas en las unidades de engorde. Es claro que el rol de las cerdas y su estatus serológico es un potencial factor que influencia la asignación de las granjas con riesgo de Salmonella (Der Stede et al., 2010).

Cuando *Salmonella typhimurium* se encuentra dentro de un hato, la infección puede permanecer sobre todo en forma subclínica, sin ningún brote de un cuadro clínico (Farzan y Friendship, 2010). Este es el caso de esta finca, en la que los animales no mostraban mayor sintomatología, más que episodios diarreicos. En estos casos, y ante la ausencia de evaluaciones regulares, la presencia de *Salmonella* se mantiene indetectable, de ahí la importancia de los programas de monitoreo implementados en la Unión Europea. Un estudio realizado por Farzan y Friendship (2010) demostró, que los cerdos que estaban clínicamente sanos pero se encontraban excretando *Salmonella*, tenían un crecimiento más lento que los que no la excretaban. Esto sugiere, que además hay un costo económico debido a la infección subclínica por *Salmonella* (Farzan y Friendship, 2010).

Se ha sugerido la utilización de vacunas vivas atenuadas vía oral como una opción viable, debido a que la inmunización oral puede estimular una inmunidad local en el intestino, induciendo la secreción de IgA. Además esta vacuna puede inducir inmunidad mediada por células que puede jugar un buen papel protector, al ser *Salmonella* un patógeno intracelular facultativo y poder evadir la respuesta humoral (Farzan y Friendship, 2010). Considero sin embargo, que antes de establecer una medida como esta, se deben implementar medidas de higiene y desinfección en la finca e incentivar al productor a acatar las recomendaciones. En el presente caso, el finquero no acataba medidas simples de realizar, por consiguiente, implementar un programa de vacunación hubiera sido aún más difícil de concretar.

### 3.2.2. Caso 2: *Mycoplasma hyopneumoniae* en finca porcina

#### 3.2.2.1. Datos, estructura y manejo de la finca

La finca se localizó en la región de Westfalia norte, cerca de Duermen, Alemania. A 800 metros de esta, se encontraba una pequeña explotación de engorde, de aproximadamente 200 cerdos, cuyo estatus sanitario se desconocía.

Contaba con un total de 750 cerdas de la raza danesa y genética JSR (Anexo 1) en un 10%). En el 2010 se realizó cambio de genética pues anteriormente manejaban solo JSR, las cuales eran positivas a *Mycoplasma hyopneumoniae*. Las danesas se encontraban negativas a Mycoplasma, esto certificado por el programa danés *Specific Patogen Free* (Libre de Patógenos Específicos).

Contaba con 2 verracos. Las cerdas preñadas eran trasladadas a la unidad de maternidad 7 días antes de la posible fecha de parto. En dicha unidad no recibían ningún manejo especial, simplemente se bañaban con agua y jabón, antes de entrar a la misma.

A los lechones se les administraba hierro inyectable a los 3 días de nacidos y Draxxin® a los 14 días. Se vacunaban contra PCV2 a la segunda semana de vida y contra *M. hyopneumoniae*, dosis única, a los 14 días. Se destetaban entre los 23-25 días de vida, con pesos alrededor de 7kg. Una vez destetados, muchos se vendían a fincas especializadas en engorde.

Existía un establo aparte del sistema de producción como tal en el cual se recibían a las cerdas de remplazo. Aquí permanecían durante 6 semanas para atravesar por un periodo de

aclimatación. El programa de vacunación y tratamientos administrados durante estas semanas se detallan en el Cuadro 8. Dichas cerdas eran libres de Mycoplasma.

El dueño reportó que cuando las cerdas de remplazo pasaban al establo, algunas de estas bajaban de peso debido a que debían ser transportadas y porque se realizaba cambio en la alimentación (de alimento húmedo a seco).

**Cuadro 8. Programa de vacunación y tratamientos aplicados durante el período de aclimatación realizado a las cerdas de remplazo al introducirse en la finca.**

<b>Llegada a la finca</b>	Desparasitación con Ivomec (4ml/animal) y tratamiento profiláctico con Linco Spectin® durante 10 días.
<b>Semana 1</b>	Transporte al establo. Vacunación contra Parvovirus, <i>Erysipella</i> , PRRS (Ingelvac®) y <i>M. hyopneumoniae</i> .
<b>Semana 3</b>	Vacunación con Covexxin8® ( <i>Clostridium chauvoei</i> , <i>C. septicum</i> , <i>C. haemolyticum</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. tetani</i> , <i>C. perfringens</i> Tipos C & D Bacterin-Toxoid), Coli 3 plus® ( <i>E. coli</i> ), Respiporc 3® (Influenza Porcina).
<b>Semana 4</b>	Revacunación contra Parvovirus, <i>Erysipella</i> , PRRS y <i>M. hyopneumoniae</i> .
<b>Semana 5</b>	Contacto con heces de cerdas del área de parición.
<b>Semana 6</b>	Revacunación con Covexxin8®, Coli 3 plus® y Respiporc 3®

Entre las normas de bioseguridad con que la finca contaba se pueden mencionar: cercas alrededor de los establos, cuarto para cambiarse de ropa, acceso restringido, overoles y botas para trabajadores y visitantes.

### 3.2.2.2. Historia de la finca

En el 2009 se reportó un aumento en el número de momias de las cerdas paridas. Se detectó la presencia de PCV2 y desde entonces se realizó vacunación en las cerdas de reemplazo durante el periodo de aclimatación.

A partir del 2010, cuando se cambió la genética por cerdas danesas, solo se vacunó a los 2 primeros grupos que entraron. Cada entrega de cerdas se realizaba cada 4 semanas en grupos de 50 animales.

A finales del 2010 se empezaron a presentar problemas de tos en cerdas y lechones aumentándose los porcentajes de mortalidad, especialmente en las cerdas que morían después del parto. Los animales presentaban tos seca y temperaturas de 39.7°C. Se inició tratamiento con tetraciclina pero no hubo una mejoría. Se cambió a Florfenicol (Nuflor®) y se observó una respuesta positiva.

Muchas cerdas morían después del parto, mostrando sangrados por la nariz y boca. Se tomaron muestras de pulmones y se determinó la presencia de *Pasteurella multocida* y *M. hyopneumoniae*. No se aisló *Actinobacillus pleuropneumoniae*. A partir de esta fecha las cerdas fueron tratadas con doxiciclina en el alimento y además se realiza vacunación de las mismas contra *M. hyopneumoniae* en el periodo de aclimatación.

En febrero del 2011 la tos aumentó en los lechones lactantes. Se realizó necropsia en cerditos de 24 y 26 días y se encontró gran afección del lóbulo apical del pulmón. Se mandaron muestras al laboratorio detectándose *M. hyopneumoniae* y *Haemophilus*

*parasuis*. Se decidió cambiar la vacunación contra *Mycoplasma* a dos dosis: en la primer y tercer semana de vida. Sin embargo, el problema continuó en los cerdos destetados.

En el cuadro 9 se detallan algunos parámetros reproductivos antes de que los signos se manifestaran (01.01.2010 al 31.03.2010), cuando estos se empezaron a manifestar (01.10.2010 al 31.12.2010) y en los primeros 3 meses del 2011 (01.01.2011 al 31.03.2011).

**Cuadro 9. Parámetros reproductivos de la finca en determinados periodos de tiempo.**

<b>Parámetro</b>	<b>01.01.10 al 31.03.10</b>	<b>01.10.10 al 31.12.10</b>	<b>01.01.11 al 31.03.11</b>
Retorno a estro (%)	9,0	7,6	8,0
% Parición	88,6	82,7	84,7
Total de cerdos nacidos/ cerda/ año	34,5	36,0	36,4
Cerdos nacidos vivos/ cerda/ año	32,2	33,4	32,2
Lechones destetados/ cerda/ año	27,5	26,9	25,0

### 3.2.2.3. Inspección de la finca

Se realizó una visita a la finca, para efectuar la evaluación general de los animales. Se observaron lechones quedados, de baja condición corporal y con tos.

Se tomó la temperatura en una cerda la cual se encontraba normal (38.8°C). Se realizó toma de temperatura en un lechón de 2 semanas y se encontraba aumentada (39.6°C). La temperatura de la granja era adecuada, debido a que no se observó ningún patrón de distribución en los lechones, que pudiera sugerir altas o bajas temperaturas (que se encontraran colocados lejos del área de calor o agrupados todos juntos sobre dicha área).

Se procedió a tomar muestras de hisopados nasales de 11 cerdas del grupo afectado, las cuales presentaban signos de tos. Estas cerdas eran las de remplazo, que se encontraban en la última semana de aclimatación.

Igualmente se eutanasiaron 2 lechones que presentaban tos con el fin de realizar necropsia y tomar muestras de pulmones para enviar al laboratorio.

#### 3.2.2.4. Resultados de laboratorio

- Hisopados nasales

De los 11 hisopados nasales tomados en las cerdas en periodo de aclimatación, 9 fueron positivos para *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante cultivo bacteriológico.

- Lechones eutanasiados

Los 2 lechones eutanasiados presentaron lesiones en pulmones, por lo que se decidió tomar muestras para análisis histopatológico, cultivos bacteriológicos y PCR. A continuación se detallan los reportes de laboratorio.

- ❖ Diagnóstico histopatológico

- Lechón 1

Se determinó una severa neumonía focal, purulenta y necrotizante con marcada histiocitosis alveolar. Además, una leve fibrosis intersticial multifocal.

- Lechón 2

Se determinó una leve a moderada neumonía intersticial difusa, con histiocitos a nivel de alveolos, además de una moderada a severa bronconeumonía catarral purulenta. Se reportó además una neumonía purulenta fibrinosa y necrotizante y fibrosis intersticial perifocal. Además, leve a moderada hiperplasia de los linfonodos.

- ❖ Diagnóstico mediante PCR

Se realizó una prueba de biología molecular, mediante PCR múltiple en tiempo real, para la detección de determinados fragmentos del genoma de *Mycoplasma hyopneumoniae*, según el método publicado por Dubosson et al. (2004).

El PCR del gen REP y el PCR del gen transportador ABC evidencian fragmentos específicos del genoma de *M. hyopneumoniae*. En este caso, se detectaron fragmentos del genoma *M. hyopneumoniae* y el gen REP, mientras que el gen ABC no fue detectado.

- ❖ Diagnóstico mediante cultivo bacteriológico

La prueba de cultivo microbiológico para patógenos pulmonares detectó un leve crecimiento de *Bordetella bronchiseptica*.

### 3.2.2.5. Recomendaciones

- Optimizar la aclimatación de las cerdas, realizando una adecuada vacunación de las cerdas jóvenes.
- Realizar contacto nariz-nariz entre animales nuevos y los de la finca por al menos 7 días.
- Si las cerdas presentan sintomatología, realizar tratamiento con antibiótico.

Medicar a las cerdas con tulatromicina (Draxxin®) por los próximos 6 meses. La sugerencia de utilizar esta terapia se basó en resultados positivos obtenidos en otros casos para la erradicación de micoplasmosis.

### 3.2.2.6. Discusión

*Mycoplasma hyopneumoniae* continúa siendo un patógeno importante en la industria porcina, a pesar de las recientes tendencias hacia la producción de alta sanidad (Dee et al., 2008a; Fano, 2008). Las pérdidas económicas debidas a neumonías por micoplasmosis se han asociado con ganancias de peso reducidas, incrementos en la mortalidad, conversión alimenticia reducida y un incremento en los costos debido a la medicación (D'Allaire et al, 2006). Se cree que existe una variación considerable entre grupos con respecto a la severidad de esta enfermedad, en donde se pueden observar grupos que llegan a matadero sin signos evidentes de la enfermedad, mientras que otros, pueden mostrar signos clínicos y lesiones en diferentes grados. Se ha postulado que estas diferencias son reflejo de la prevalencia de lechones infectados al destete, ya que se presume que estos animales constituyen la principal fuente de infección para el grupo (Dee et al., 2008a). Clínicamente

se caracteriza por una tos seca no productiva, aunque la presencia o ausencia de tos varía entre animales (D'Allaire et al., 2006).

En el presente caso se había aislado *Pasteurella multocida* y *Haemophilus parasuis* con anterioridad, característico de las enfermedades respiratorias en cerdos, que usualmente son de carácter multifactorial (Kadlec, 2006). Ante la presencia de dichos agentes, se puede hablar de una neumonía enzoótica, término utilizado para describir el patrón de enfermedad de *M. hyopneumoniae* en combinación con otros agentes etiológicos, como lo son *P. multocida*, *Streptococcus suis*, *H. parasuis* o *Actinobacillus pleuropneumoniae* (D'Allaire et al, 2006).

En el presente caso, la introducción de animales negativos a *M. hyopneumoniae* a un hato positivo fue el desencadenante del problema. En estas situaciones la solución consiste en minimizar el efecto negativo tanto en el hato existente como en los animales recientemente introducidos para no desestabilizar el hato (Dee et al., 2008b). Se ha reportado que los sistemas de producción cerrados tienen mayor estabilidad inmunológica comparado con hatos donde los animales se compran. En estos casos, es importante evaluar el estatus sanitario del hato de donde vienen los animales. Las cerdas de reemplazo deberían provenir de hatos con estatus sanitarios similares o incluso mejores, y se debe de respetar una cuarentena o un periodo de adaptación de por lo menos 30 días (Haesebrouck et al., 2007).

Como se observó, las cerdas que entraban, pasaban por un periodo de aclimatación de 6 semanas en el cual se medicaban y vacunaban contra distintos agentes, entre ellos

*Mycoplasma*. Sin embargo, por razones que se desconocen, estas medidas se realizaron únicamente en los 2 primeros grupos que entraron al hato, esto pudo incrementar la severidad de la sintomatología. Aunque el vacunar las cerdas previo a su entrada a los establos de infectados no previene la infección de éstas, sí permite una reducción de los signos clínicos y lesiones (Dee et al., 2008b; Fano, 2008). Según el estudio de Bernal et al. (2006), cerdos que provenían de cerdas vacunadas, mostraron menos lesiones en matadero compatibles con neumonía enzoótica, que los provenientes de cerdas sin vacunar.

Por otra parte, el realizar la vacunación contra *M. hyopneumoniae* al mismo momento que la del virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) puede no ser adecuado. Se ha determinado bajo condiciones experimentales, que la administración de vacunas contra PRRS (cepa US) al momento de la vacunación contra *M. hyopneumoniae*, reduce significativamente la eficacia de esta última vacuna. Por el contrario, la administración de la vacuna PRRS una semana antes, no interfirió con la eficacia de la vacuna de *M. hyopneumoniae* o la respuesta inmune (Haesebrouck et al., 2007).

Las cerdas de reemplazo llegaban negativas al hato, pero probablemente se infectaban durante periodo de aclimatación. Una vez infectadas, permanecían excretando el agente por largos periodos perpetuando así el proceso de infección. Estudios realizados por Fano (2008), mostraron que es posible aislar el agente en muestras nasales y bronquiales de hembras en edad de reproducción hasta 185 días posteriores a la infección, y que estos animales pudieron además infectar animales susceptibles hasta 120 días post infección, ya cuando los signos habían desaparecido (portadores asintomáticos) (Fano, 2008). Este largo

periodo de infección explicaría el por qué el microorganismo se encontraba recirculando dentro de la granja.

Una vez que estas cerdas fueron montadas y empezaron a parir, pudo haber ocurrido transmisión vertical mediante leche hacia sus lechones los cuales posteriormente empezaron a mostrar la sintomatología reportada. Se ha sugerido que la transmisión vertical del agente es influenciada por la presión de infección en el hato de cerdas. En el estudio realizado por Dee et al. (2008a) se determinó, que la vacunación y tratamiento antibiótico en el alimento de cerdas, reduce significativamente la prevalencia de cerdos infectados al destete, lo cual sugiere, que la transmisión vertical durante la lactancia es el principal factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad en el grupo. Sin embargo, no existen aún estudios que apoyen esta hipótesis (Dee et al., 2008)

Se ha reportado que la implementación de estrategias de destete temprano, en las que los cerdos son destetados entre 7 a 10 días de edad y llevados a un sitio aislado, reducen significativamente la transmisión del agente de cerdas a lechones durante la lactancia, pero no lo eliminan por completo (D'Allaire et al., 2006; Haesebrouck et al., 2007).

La transmisión mediante un animal portador es la fuente de infección más común. La transmisión aerógena también se ha documentado bajo factores que incluyen alojamiento de los animales, ventilación, prácticas de manejo como la densidad de animales y condiciones climáticas (D'Allaire et al., 2006). La producción de cerdos en áreas con alta densidad por metro cuadrado facilita la transmisión de patógenos principalmente por aire y también entre diferentes hatos (Bernal et al., 2006).

Al observar los parámetros reproductivos de la finca se evidencia como esta condición afectó de forma indirecta, la reproducción de los animales. Los parámetros afectados fueron el porcentaje de parición y el número de lechones destetados por cerda por año. El motivo por el cual se realizó el cambio de genética se debió a que el productor deseaba aumentar el número de lechones destetados/cerda/año, sin embargo, el resultado fue totalmente lo contrario, pues este parámetro pasó de 27 a 25 lechones.

Con respecto al diagnóstico, los hallazgos histopatológicos fueron respaldados por el PCR al detectar éstos fragmentos de genes de *Mycoplasma*. Al presente, los ensayos de PCR se consideran como la herramienta más sensible para detectar la infección (Haesebrouck et al., 2007); aunque el cultivo y el aislamiento se consideran las técnicas de oro para la detección de *M. hyopneumoniae*, el aislamiento del organismo es difícil debido a sus requerimientos de medios especiales, sus propiedades de lento crecimiento (4-8 semanas) para crecer a niveles que se puedan medir y su interferencia con otros *Mycoplasmas* de cerdos (D'Allaire et al., 2006).

Es importante tener en cuenta que el control de dicha enfermedad se debe de realizar de manera integral, con un entendimiento epidemiológico de *M. hyopneumoniae* en los sistemas de producción, e identificando los puntos vulnerables de la cadena de infección, donde la transmisión puede ser reducida o eliminada (Fano, 2008). Las estrategias de intervención se deben realizar con el fin de disminuir la transmisión de la bacteria de animales infectados y para proteger a los susceptibles (Pieters et al., 2010).

La producción todo dentro/todo fuera es probablemente la solución más efectiva para el control de la neumonía enzoótica, debido a que interrumpe el ciclo de transmisión del patógeno de cerdos adultos a jóvenes (Haesebrouck et al., 2007). La disminución de la densidad animal en las diferentes etapas de producción también ha demostrado reducir el nivel de la enfermedad respiratoria. El hacinamiento puede llevar a un incremento en la transmisión de patógenos y a reacciones de estrés, provocando que los cerdos sean más susceptibles a enfermedades infecciosas (Haesebrouck et al., 2007).

Con respecto a los tratamientos instaurados, el uso de antibióticos fue una opción acertada como tratamiento complementario a la vacunación. Para que el antibiótico resulte ser efectivo contra el organismo, este debe alcanzar niveles significativos dentro de la mucosa y los fluidos del tracto respiratorio (D'Allaire et al., 2006). En casos de altos grados de infección o de hatos con condiciones pobres de manejo, el uso de antimicrobianos puede resultar necesario o puede conferir beneficios adicionales en los hatos vacunados. La principal ventaja de la vacunación, es la mejoría en la ganancia de peso diario (2-8%), la conversión alimenticia (2-5%) y en ocasiones, disminución de las tasas de mortalidad. Adicionalmente, se puede observar un menor tiempo para alcanzar el peso de mercado, una reducción de signos clínicos y lesiones pulmonares y menores costos en tratamientos (Haesebrouck et al., 2007).

Aunque se ha reportado que tiamulina, florfenicol, lincomicina, tetraciclinas, doxiciclina, quinolonas y tilmicosina son antimicrobianos efectivos contra este agente (Fano, 2008), en casos como este, en los que hay presencia de distintos agentes, que complican el cuadro por *M. hyopneumoniae*, se recomienda el uso de una combinación de

antimicrobianos (D'Allaire et al., 2006; Haesebrouck et al., 2007). La tulatromicina (Draxxin®), una nueva clase de macrólidos, resulta eficiente en el tratamiento de enfermedad respiratoria asociada a *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica* y *H. parasuis* (Universo Porcino, 2011).

En el caso de la vacunación de lechones, resultó atinado el cambio que se realizó de una dosis a dos dosis, pues se ha demostrado, que este esquema de vacunación es más eficiente, ya que genera un mayor título de anticuerpos y mejor inmunidad, favoreciendo que el animal pueda enfrentar el desafío de una manera más satisfactoria. Además, se ha demostrado una mayor reducción de lesiones a nivel pulmonar y por ende, menores pérdidas económicas en producción (Sibila, 2007). El hecho de que el problema persistiera en los lechones, a pesar del cambio de vacunación en estos, se puede haber debido a que la evaluación y evidencia de la eficacia de una vacuna mediante la reducción de lesiones pulmonares se debe realizar aproximadamente 3.5 meses después de la vacunación (Dee et al., 2010) y en este caso, el cambio del esquema de vacunación llevaba vigente 1 mes y medio aproximadamente.

#### 4. CONCLUSIONES

Mediante las visitas a las fincas y el manejo de los distintos casos clínicos observados, se concluye que un abordaje clínico encaminado a un diagnóstico acertado va de la mano con la inspección y evaluación a nivel de finca, una buena anamnesis y el conocimiento del comportamiento epidemiológico de determinados agentes etiológicos. Aunado a esto, es importante realizar una adecuada toma de muestras, acorde con la clínica presentada, y sacar el mayor provecho a las técnicas de diagnóstico laboratorial de las cuales se dispone (PCR, ELISA) así como de los servicios de microbiología, patología, además de la inspección de los animales a nivel de matadero.

Una evaluación andrológica, que incluya tanto una valoración física del sistema reproductor, como el análisis de muestras de semen manipuladas adecuadamente, así como la realización de colectas de semen bajo normas de higiene, garantizan el cumplimiento de parámetros mínimos de calidad seminal; procedimientos que con la realización de esta pasantía se pudieron llevar a cabo, reforzando los conocimientos previos y adquiriendo nuevos.

Al igual que en nuestro país, en Alemania, las afecciones respiratorias continúan siendo uno de los problemas más frecuentes e importantes de la clínica observada en el sector porcino debido principalmente a su fuerte impacto económico, al afectar la salud y productividad de los animales.

## 5. RECOMENDACIONES

Para animales utilizados como reproductores, se recomienda realizar evaluaciones andrológicas adecuadas que incluyan una valoración física del sistema reproductor y apendicular, aspectos que, cabe destacar, muchas veces se dejan de lado. Igualmente resulta necesaria la evaluación de muestras de semen por parte de personas altamente capacitadas en la materia.

Prestar más atención a las prácticas de manejo que se realizan a nivel de la finca pues en muchas ocasiones, aunque puede que no sean la causa primaria de la presencia de enfermedades, estas tienden a exacerbar, perpetuar y/o complicar la presentación de la sintomatología clínica en los animales y la persistencia de los agentes infecciosos en la finca.

Mejorar las condiciones higiénicas en las fincas realizando una apropiada desinfección de los establos, colocando pediluvios a la entrada de cada uno de estos y reforzando las medidas de bioseguridad. Además, en la medida de lo posible, distribuir el personal de trabajo en áreas específicas con el fin de evitar la diseminación de enfermedades de sectores contaminados a sectores libres.

Evitar el uso indiscriminado de distintos antibióticos, valiéndose de las herramientas de diagnóstico laboratorial esto con el fin de implementar terapias que sean más específicas, dirigidas a un problema en particular. Sumado a esto, es de vital importancia respetar las dosis recomendadas por la casa comercial y/o el Médico Veterinario

Evaluar las terapias y los protocolos de vacunación, que se ajusten de acuerdo a la condición epidemiológica de la finca.

En sistemas abiertos, realizar adecuados periodos de aclimatación y cuarentena de los animales entrantes.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, T. & M. Muirhead. 2001. Manejo sanitario y tratamiento de las enfermedades del cerdo. 1a. ed. Inter- Médica, Buenos Aires, Arg.
- Badiola, I., N. Majo, M. Nofrarias, J. Pujols, M. Roca, J. Segales & M. Sibila. 2006. Experimental infection of pigs with two strains of *Salmonella enteric serovar typhimurium*. p. 382. Proceedings of the 19th IPVS Congress. Jun. 22-26. IVIS, Copenhagen, Denmark.
- Bager, F., P. Gerner-Smidt, T. Hald, H. Korsgaard, M. Madsen, K. Mølbak, H.C. Wegener & D.L.F. Wong. 2003. *Salmonella* Control Programs in Denmark. *Emerg Infect Dis.* 9: 774-780.
- Bascuas, J.A., Y. Dahmani., V. Falceto., R.M. Martin & J.L. Úbeda. 2010. Practical review on reproductive testis pathology in boar. p.70. Proceedings of the 21st IPVS Congress. Jul. 18-21. IVIS, Vancouver, Canada.
- Batista, R. 1999. Práctica dirigida en especies productivas con énfasis en reproducción porcina. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R.
- Bernal, R., M. Calsamiglia, D. Llopart, P. Riera, M. Sibila & D. Torrent. 2006. Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* sow vaccination on colonization, seroconversion and

presence of enzootic pneumonia compatible lung lesions. p. 103. Proceedings of the 19th IPVS Congress. Jun 22-26. IVIS, Copenhagen, Denmark.

Busch, W & D. Waberski. 2010. Manual de inseminación artificial y de explotación zootécnica de los animales domésticos. 1a ed. Acribia, España.

Calsamiglia, M., A. Espinal, S. Lopez, M. Nofrarías, J. Seaglés, M. Sibila & O. Valero. 2007. Chronological study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs. Vet Microb. 122: 97–107

Carvajal, A., J. Collazos, K. Garcia, P. Rubio & A. Vidal. 2006. Faecal shedding and distribution of different *Salmonella* serovars in tissues after experimental infection in pigs. Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark. 2: 370

Carvalho, LF., TB. Garcia & CJ.Oliveira. 2006. Experimental transmission of *Salmonella typhimurium* in weaned pigs by nose-to-nose contact. p. 373. Proceedings of the 19th IPVS Congress. Jun. 22-26. IVIS, Copenhagen, Denmark.

Chow, E., M. McFall, A. Muckle, A. Rajić, L. Rosengren, C. Waldner & W. Wilkins. 2010. Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan. Canad Journ of Vet Res. 74: 81–90.

Cockcroft, P.D. & P.G. Jackson. 2007. Handbook of pig medicine. 1<sup>st</sup>ed. Elsevier, Philadelphia, US.

Cowart, R.P. 1995. An outline of swine diseases: a handbook. 1<sup>st</sup> ed. Iowa State University, US.

Cruz, A.C. 2000. Clínica y cirugía de bovinos y porcinos con énfasis en control de mastitis en lechería especializada. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Costa Rica, C.R.

D`Allaire, S., B.E. Straw, D.T. Taylor & J.J. Zimmerman. 2006. Diseases of swine. 9<sup>th</sup> ed. Blackwell Publishig, US.

Dee, S., J. Deen, E. Fano & C. Pijoan.2006a. Prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in piglets at weaning as a predictor on the severity of the disease in growing pigs. p. 95. Proceedings of the 19th IPVS Congress. IVIS, Copenhagen, Denmark.

Dee, S., E. Fano, M. Pieters & C.Pijoan. 2006b. Transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* to vaccinated and unvaccinated replacement gilts from persistently infected pigs. p. 102. Proceedings of the 19th IPVS Congress. IVIS, Copenhagen, Denmark.

- Dee, S., E. Fano, M. Pieters & C. Pijoan. 2010. An experimental model to evaluate *Mycoplasma hyopneumoniae* transmission from asymptomatic carriers to unvaccinated and vaccinated sentinel pigs. *Canad. Journ. of Vet Res.* 74: 157-160.
- Der Stede, Y., E. Méroc, M. Strubbe, E. Van Driessche & F.Vangroenweghe. 2010. Relationship between serological status of sows and the assignment as Salmonella risk farm in the Belgian Salmonella control program. p. 177. Proceedings of the 21st IPVS Congress. Jul. 18-21. IVIS, Vancouver, Canada.
- Ebeling, S., A. Labbuda & B. Meinecke. 2010. In vitro ageing of porcine oocytes: changes in phosphorylation of the Mitogen- Activated Protein Kinase (MAPK) and parthenogenetic activability. *Rep Dom Anim.* 45: 398-404.
- Ebeling, S., B. Meinecke & D. Töpfer. 2011. Steroidogenesis and the influence of MAPK activity during *in vitro* maturation of porcine cumulus oocyte complexes. *RepDomAnim.* 46: 513-519.
- Fano, A. 2008. Estrategias de control de *Mycoplasma hyopneumoniae*: Aplicación de las bases epidemiológicas. *Avan en Tec Porc.* 5: 6-18.
- Farzan, A & R.M. Friendship. 2010. A clinical field trial to evaluate the efficacy of vaccination in controlling Salmonella infection and the association of Salmonella-shedding and weight gain in pigs. *Canad. Journ. of Vet. Res.* 74: 258–263.

- Fernández, F., J. E. Hernández & M.C. Reyes. 2010. Maduración y fertilización in vitro de ovocitos de cerda obtenidos por punción y corte de folículos. *Sal Anim.* 32: 78-83.
- Fernández, F., J. E. Hernández & M.R. Rosales. 2009. Efecto de la adición de FSH y LH en el medio sobre la maduración y el desarrollo embrionario in vitro de ovocitos de cerda. *Sal Anim.* 31: 122-128.
- García, J., M. Falato., R. Hernández., S. Lapuente & M. Rillo. 1999. Análisis de fallos reproductivos: causas y soluciones. *Porci. Tratado de ganado porcino.* 49: 41-61.
- Gordon, I. 1997. *Controlled reproduction in pigs.* CAB International, New York, US.
- Haesebrouck, F., D. Maes, T. Meyns, M. Pieters, J. Segales & M. Sibila. 2008. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Vet. Microb.* 126: 297-309.
- Harris, D.L. 2000. *Producción porcina multi-sitio.* Acribia, Zaragoza, España.
- Houston, D.M., I.G. Mayhew & O.M. Radostits. 2010. *Veterinary clinical examination and diagnosis.* 1<sup>st</sup> ed. Saunders, U.K.
- Hill, J.R. & D. Sainsbury. 1995. *The health of pigs.* 1<sup>st</sup> ed. Longman, England.
- Kadlec, Kristina. 2006. Detection and organization of antimicrobial resistance genes in *Bordetella bronchiseptica* isolates from pigs. PhD Thesis, University of Veterinary Medicine of Hannover, Germany.

Kyriazakis, I & C. Whittemore. 2006. Whittemore's science and practice of pig production. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Publishing, Iowa, US.

JSR Farming Group. 2009. JSR Genetics [en línea]. JSR Farming Group, U.K. <http://www.jsrgenetics.co.uk/grandparents.php>. (Consulta: 02 jul. 2011)

Labor Diagnostik Leipzig. 2011. SALMOTYPE® PigScreen [en línea]. Labor Diagnostik Leipzig, Germany. [http://www.lableipzig.de/fileadmin/user\\_upload/downloads/produkte/schweine/elisa/ST-PigScreen-G-Info-eng.pdf](http://www.lableipzig.de/fileadmin/user_upload/downloads/produkte/schweine/elisa/ST-PigScreen-G-Info-eng.pdf) (Consulta: 23 jun. 2011).

Levis, D. 1997. Managing post- puberal boars for optimum fertility. *Compend. Food. Anim. Med. and Manag.* Vol 19: 17-23

Lewerin, S., J. Österberg & P.Wallgren. 2010. Direct and indirect transmission of four *Salmonella enterica* serotypes in pigs. p.173. Proceedings of the 21st IPVS Congress. Jul. 18-21. IVIS, Vancouver, Canada.

Novartis Animal Health US, Inc. 2008. Reproductive Diseases: Swine Disease. [www.livestock.novartis.com/diseases\\_repro\\_swine.html](http://www.livestock.novartis.com/diseases_repro_swine.html). (Consulta: 25 de enero, 2011)

Pelliza, B.R., A.I. Carranza, G. Di Cola & A. Ambrogi. 2007. Monitoramento das patologías em suínos no período de crescimento. Arq. Bras. Med.Vet. Zootec. Vol. 59 (3): 614-620.

Ptaszynska, M. 2007. Compendio de reproducción animal. 9na ed. Intervet, Uruguay.

Solano, D. 1999. Clínica de especies productivas con énfasis en bovinos y suínos. Práctica dirigida de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R.

Rodriguez, H., J.L. Vallet & A.J. Ziecik. 2009. Control of Pig Reproduction VIII. Nottingham Press, UK.

Rozeboom, K.J. 2000. Evaluating Boar Semen Quality. Department of Animal Science, North Carolina State University, US.

Taylor, D.J. 1992. Enfermedades del cerdo. 2a ed. Manual Moderno, México.

## 7. ANEXOS

### Anexo 1.

#### *Genética JSR.*

Las compañías del Grupo JSR fueron creadas en Inglaterra, en el año 1958 por John Sykes Rymer. Consta de dos empresas: JSR GENETICS, empresa internacional de genética porcina y JSR FARMS, empresa de agricultura integrada en el concepto de agricultura sostenible (JSR Farming Group, 2009).

El criadero de JSR está destinado específicamente a clientes que demandan productos fiables que mantengan una calidad elevada (JSR Farming Group, 2009).

Dentro del programa para cerdas de JSR, se ofrece los siguientes productos:

Genepacker 1: Incluye la Genética JSR Large White considerada la línea más productiva y prolífica comercialmente hablando. Puede lograr dar más de 17 lechones vivos, lo cual se alcanza sin ningún efecto negativo en el crecimiento o rendimiento productivo. Cerda con un buen periodo de celo, elevada capacidad de amamantamiento y un enorme potencial para la producción de lechones fuertes y sanos (JSR Farming Group, 2009).

Genepacker 2: Incluye a las altamente prolíficas Landrace. Seleccionadas inicialmente por su prolificidad, tienen además excelentes características maternas. Varios criterios,

incluyendo un mínimo de 12 pezones, aseguran que solo animales capaces de criar gran cantidad de lechones vivos, sean seleccionados en el hato (JSR Farming Group, 2009).

Genepacker 4: Es una combinación de la línea Landrace que incluye 25% genética White Duroc. Son animales robustos que conservan las características de la línea duroc, ideal para condiciones desafiantes, ofreciendo a la vez una excelente prolificidad (JSR Farming Group, 2009).

Las cerdas del programa JSR tienen una excelente carnosidad y son totalmente aptas para la cría. El cerdo para matanza ofrece condiciones de calidad excelente, especialmente apropiado para la exportación (JSR Farming Group, 2009).

Los programas de cría que ofrece la compañía JSR incluyen (JSR Farming Group, 2009):

- Compra de animales abuelos para producción propia de F1.
- Compra de animales abuelos con cría propia de F1 y sustitución de los abuelos.
- Compra de esperma de abuelos y cruce mediante rotación de sangre JSR. Los tres linajes disponibles (Landrace, Large White y Duroc) son poblaciones cerradas desde hace 25 años en el criadero de JSR y se crían con propiedades como una buena carnosidad.

La Genética JSR provee a los productores de cerdos de una variedad de productos y servicios, así como de una amplia gama de reproductores y semen de alta calidad (JSR Farming Group, 2009).

Los verracos son reemplazados regularmente con el fin de mantener el mejoramiento genético y la calidad de los productores. Previa entrada de los verracos, estos se mantienen en una unidad de aislamiento por al menos 6 semanas, tiempo en el cual son evaluados de acuerdo a los protocolos de la Unión Europea así como a los propios protocolos de JSR (JSR Farming Group, 2009).